



TITLE:

京都大学再生医科学研究所年報 2001

AUTHOR(S):

CITATION:

京都大学再生医科学研究所年報 2001. 京都大学再生医科学研究所年報
2002, 4

ISSUE DATE:

2002-03-20

URL:

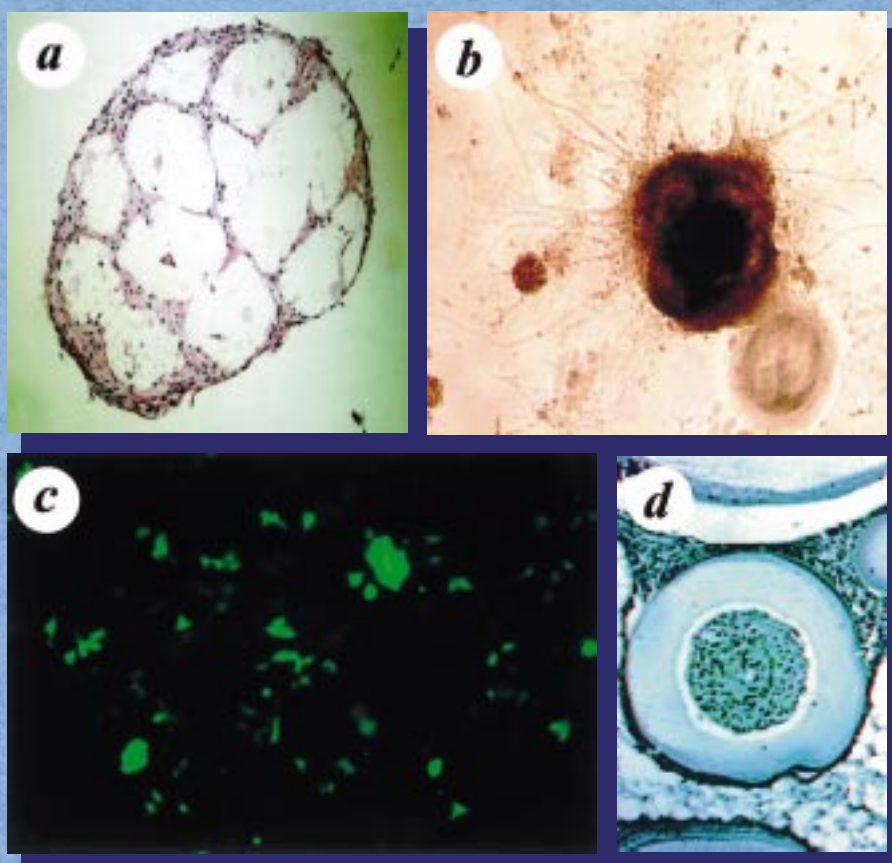
<http://hdl.handle.net/2433/50574>

RIGHT:

京都大学

再生医科学研究所年報

Annual Report of the Institute for Frontier Medical Sciences
Kyoto University



第4卷

2001
平成13年

表紙写真

(a)平滑筋細胞からなる3次元組織体，(b)高分子基材表面で神経に分化誘導されたES細胞塊，(c)DNA担持表面でトランスフェクションしたHEK293細胞によるGFPの発現，(d)膵島を免疫離膜に封入した人工膵臓．

目 次

1 . 巻頭言	1
2 . 京都大学再生医科学研究所概要	
2 - 1 沿革	2
2 - 2 教員数等	2
(1) 教員	2
(2) 大学院生・研修員・研究生	2
2 - 3 組織図	3
3 . 研究概要と研究業績	
生体機能学研究部門	
細胞機能調節学分野	4
生体微細構造学分野	10
生体機能調節学分野	13
シミュレーション医工学分野	18
生体組織工学研究部門	
生体分子設計学分野	26
生体材料学分野	30
組織修復材料学分野	44
再生統御学研究部門	
発生分化研究分野	51
再生誘導研究分野	58
再生増殖制御学分野	63
再生免疫学分野	66
生体システム医工学研究部門	
医用システム工学分野	71
生体機械工学分野	76
再生医学応用研究部門	
組織再生応用分野	83
器官形成応用分野	88
臓器再建応用分野	93
再生医学応用流動分野	99
附属再生実験動物施設	102
4 . 学術集会	
4 - 1 再生医科学研究所シンポジウム	106
4 - 2 セミナー	106
4 - 3 研究発表会	109
4 - 4 学術講演会・シンポジウム・研究会	110
5 . 協議員・教職員名簿	117

1. 巻 頭 言

設立4年目を終えようとしている再生医科学研究所は、やっと本来の目的に向かって始動できるようになった。すなわち、念願であった総合研究実験棟（動物施設）の工事が槌音高く進行中であり、平成13年度補正予算によってES細胞研究棟の新営が認められ、平成14年3月末竣工の予定である。さらに附属施設として幹細胞医学研究センターの新設が、平成13年12月末に内定の通知を受けた。これには3領域に助教授3（うち助教授1振替）が認められ、これによって昨年の巻頭言で平成13年度の最大目標と述べていた全てが実現したことになる。また大型特別機械整備として、磁気共鳴断層撮影システム、幹細胞機能発現解析システム、幹細胞株培養解析システムの購入が平成13年度補正予算で認められた。これらの全てが整備されることにより「ヒトES細胞の樹立と特性解析」の研究が、単に再生医科学研究所内の研究にとどまらず、国家的プロジェクトとして実動が可能となる。

このような波に乗れたのは、研究所全体が一丸となって「ヒトES細胞樹立施設」となるべく周辺整備を行うとともに、各分野、領域において一線級の研究を展開し、結果を単に学術誌に発表するにとどまらず、メディアにも取り上げられやすい発表法を行い、再生医科学研究所のイメージを一般にも認知されるべく努力してきた成果である。一方、長尾総長はじめ本部事務局、特に経理部、研究協力部、施設部の皆さんの精力的で温かい支援によって、文部科学省との交渉も円滑に運びえた結果でもあり、この場を借りて深く感謝の意を表したい。また、星野一正名誉教授に委員長に就任いただいた、各界の論客がそろっている「再生医科学研究所ヒト幹細胞に関する倫理委員会」での厳正な審議により、凍結受精卵提供者の自発的同意を保証するプロセスやヒト胚の取り扱いに関して、国のガイドラインに沿ったヒトES細胞樹立計画の確認を平成13年12月27日に申請するに至った。

教官人事に関しては、平成13年3月31日をもって定年退官された再生医学応用研究部門組織再生応用分野の教授席を任期制にした。また、生体システム医工学研究部門生体システム制御学分野の教授選考においては27名の応募があり、最終選考に残られた3名は全員我々の研究仲間として就任していただきたい方々であったが、最終的に長澤丘司教授に決定した。

平成14年度こそ我々の研究所の真価が問われるときである。大学の独立法人化の波が間近に迫っているこのとき、医学〔基礎、臨床〕、工学、理学と学際的な研究所としての特徴を生かし、人的財産と設備的財産により生み出される中期目標の設定を解りやすくした中期計画を立て、厳しい評価が予想される事業報告書では、真の科学業績を前面に打ち出すべく準備に入らなければならない。また、やっと出発点にたった研究所がさらに発展するためには、単に研究者の努力のみでは達成できず、事務部、技術部など研究支援組織とが一体となった効率よい動きが望まれる。

平成14年1月

所 長 山 岡 義 生

2. 京都大学再生医科学研究所概要

2 - 1 沿 革

本研究所は、平成10年4月9日に設置された。その前身である胸部疾患研究所は、昭和16年3月に「結核の予防及び治療」を主軸とする結核研究所として設置され、昭和42年6月には結核胸部疾患研究所に名称変更、さらに昭和63年4月には「胸部疾患に関する学理及びその応用の研究」を目的とした胸部疾患研究所への全面改組が行われたが、胸部疾患に関する研究・治療を取り巻く社会的要請の変化から、胸部疾患研究所は57年間にわたる使命を終え、平成10年度より、同研究所基礎系分野及び臨床系分野の一部を人工臓器の研究・開発に関して顕著な業績を挙げて来た生体医療工学研究センターと統合し、さらに実地臨床医学を行う医学研究科との協力により、「生体組織及び臓器の再生に関する学理及びその応用の研究」を目的とする再生医科学研究所に改組・転換された。

改組・転換に伴い、胸部疾患研究所の臨床系分野の一部と研究所附属病院は、大学院医学研究科・医学部並びに医学部附属病院へそれぞれ引き継がれた。

本研究所は、生体機能学、生体組織工学、再生統御学、生体システム医工学、再生医学応用の5大研究部門（19研究分野 3客員分野）と附属再生実験動物施設で組織され、疾患によって侵された臓器や組織を自己組織の再生過程を通じて構築された新たな組織と入れ換える再生医科学の開発を目指している。

2 - 2 教 員 数 等

(1) 教 員 （平成14年1月1日現在）

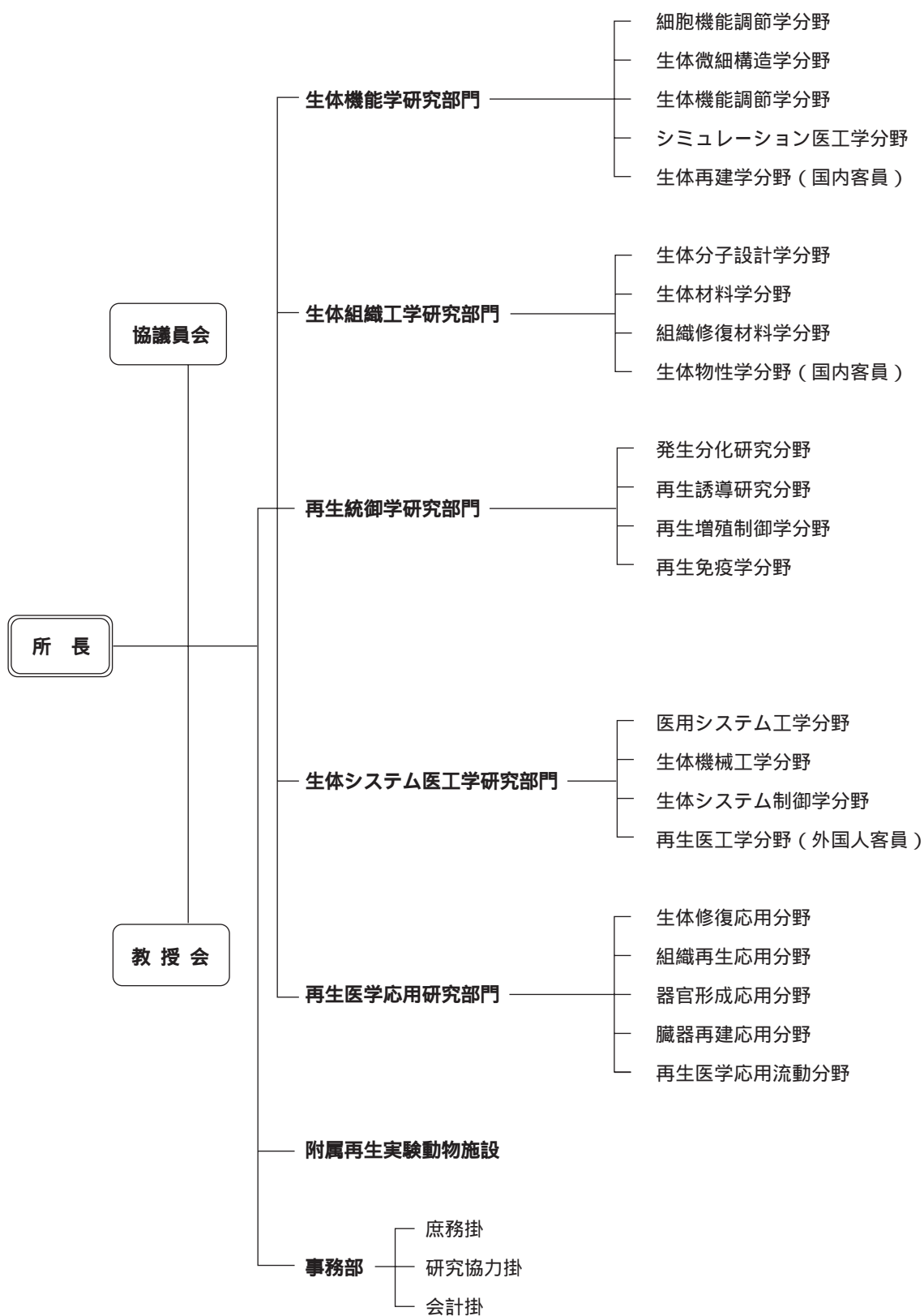
区 分	教 授	助 教 授	助 手	計
定 員	18 (2) 1	16 (1)	5	39 (3) 1

() は国内客員で外数
は外国人客員で外数

(2) 大学院生・研修員・研究生 （平成14年1月1日現在）

大 学 院 生	研 修 員	研 究 生	外国人共同研究者
81	4	25	1

2 - 3 組 織 図



３．研究概要と研究業績

生体機能学研究部門

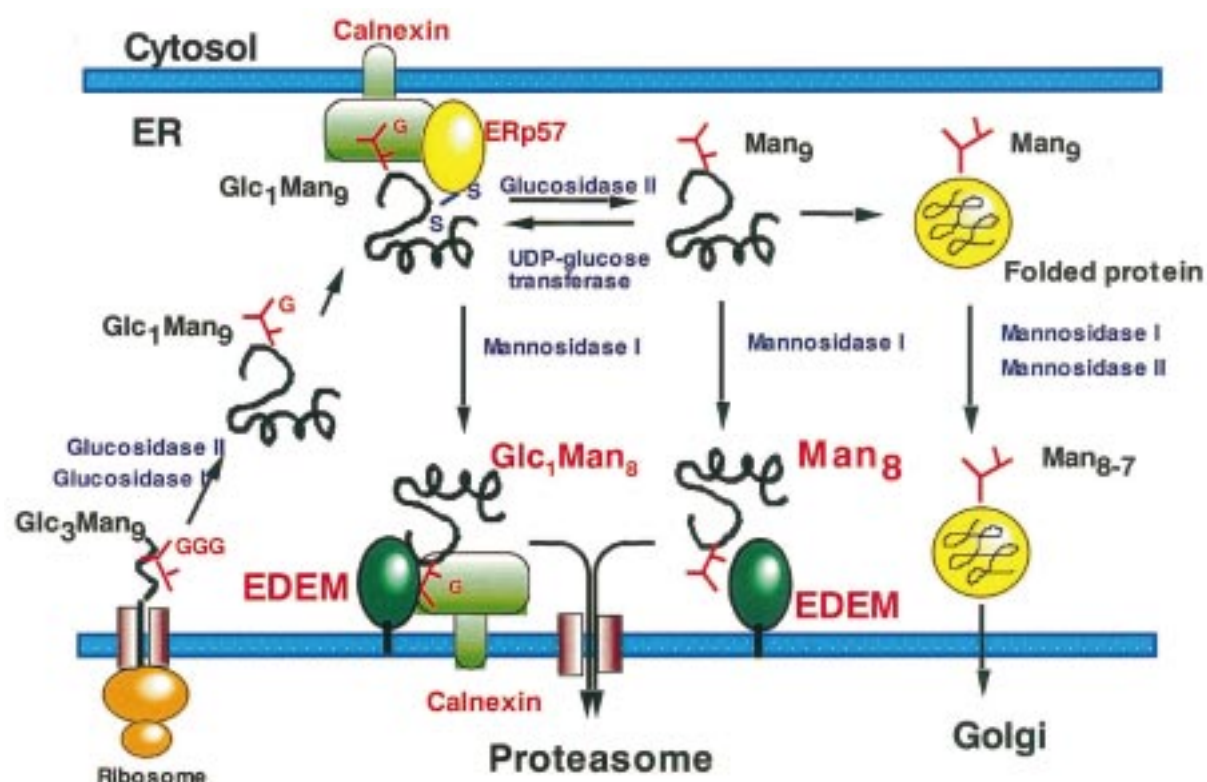
細胞機能調節学分野

Department of Molecular and Cellular Biology

【研究概要】

細胞機能調節学分野においては、再生現象のもっとも基盤となるタンパク質の機能形成過程について、主として分子シャペロンの機能を中心に研究を進めている。

第１のテーマはコラーゲン特異的分子シャペロン HSP47の機能と発現、およびその発生、再生、病態における役割に関するものである。HSP47は、コラーゲンに結合能を持ったストレス蛋白質であり、小胞体とゴルジ間をシャトルのように往復しながら、プロコラーゲンの合成や分泌に関わっている基質特異的分子シャペロンである。HSP 47は機能的にコラーゲンと関係しているだけでなく、一方で常にコラーゲンの発現と相関していることが明らかにされている。各種繊維化疾患において劇的に発現誘導されるだけでなく、マウスの発生の各時期においても、HSP 47とコラーゲンの両者は空間的・時間的に一致して発現していることが明らかになっている。



新規に合成された分泌タンパク質、膜タンパク質は、トランスロコンを通して小胞体へ輸送された後、小胞体においてカルネキシンなどの分子シャペロンの働きを介して、正しいfoldinを受ける。遺伝子の変異などによって、正しい構造を取りえないタンパク質は、再びトランスロコンを通してサイトゾルへ逆輸入され、そこでユビキチン・プロテアソーム系によって分解される。これがERAD (ER-associated degradation) である。ERADを受けるタンパク質は、マンノースが9個から8個ヘトリミングされる必要があるが、このマンノース8型基質を確認するレクチン/シャペロン様タンパク質としてEDEMがクローニングされた。

すでに HSP47 遺伝子のノックアウトに成功し、HSP47 欠損マウスは、コラーゲンの分子異常を引き起こして、10 日目以降で、胎生致死になり、HSP47 がマウスの発生に必須の遺伝子であることを明らかにした。特に IV 型コラーゲンの異常を反映して、基底膜形成に異常が見られ、基底膜の形成にとって HSP47 が必須の役割を担っていることが明らかになり、発生、再生という現象に HSP47 は必須の役割を担う分子シャペロンである。本年は、HSP47 をヘテロ、ダブルにノックアウトした ES 細胞から embryoid body を形成させ、そのような初期発生のモデルにおいても、HSP47 を破壊することによって、基底膜形成の異常が引き起こされることを明らかにした。また、HSP47 の発現制御は繊維化疾患の治療からも重要であると認識されているが、HSP47 の発現に関与する新たな転写因子群をクローニングし、現在その解析を進めている。

第 2 のテーマとして昨年度から始まった小胞体における新生糖蛋白質の品質管理に関わる新規蛋白質 EDEM の研究がある。小胞体に変性蛋白質が蓄積すると、それが小胞体ストレスとなり、小胞体内のストレス蛋白質が誘導される。このような小胞体ストレスによって誘導される新たな遺伝子を発見し、EDEM と名付けた。EDEM は、 α -マンノシダーゼ様の 1 次構造を持つが、酵素活性は持たず、正しく folding されない糖蛋白質の分解に関与することが明らかになった。小胞体における変性蛋白質は、いったん小胞体から細胞質ゾルへ逆輸送され、ユビキチン-プロテアソーム系によって分解される。これを ERAD (ER-associated degradation) と呼ぶが、糖蛋白質は ERAD にまわされるために、マンノースが 9 個から 8 個にまでトリミングされる必要がある。EDEM はこのマンノース 8 型の mal-folded 糖蛋白質のみを認識し、ERAD へと導くのに必須の蛋白質であることがわかった。さらに、今年度は、EDEM の上流にあり、マンノースを 8 個へとトリミングする小胞体マンノシダーゼ (ER mannosidase I) が、細胞に強制発現させると ERAD を促進することが明らかになった。現在、EDEM と相互作用する小胞体内の分子について研究を進めている。

第 3 のテーマである細胞質シャペロニン CCT の研究についても詳しい生化学的および細胞生物学的解析を行った。CCT は、ヒトを始めとするあらゆる真核生物に必須の分子シャペロンであり、細胞内でアクチンやチューブリンなど蛋白質を生合成直後に分子構造の成熟 (folding) をさせるために不可欠である。CCT は二重ドーナツ様の構造をした 16 量体で 8 種類のサブユニットにより構成される。CCT 複合体が細胞機能に対して果たす役割を明らかにすること、そして、個々のサブユニットの機能と発現制御機構を解明することを目的としてさらに研究を進めた。その結果、CCT サブユニットの発現量は S 期を最大として細胞周期によって変動するが、その変動率がサブユニット種によって異なること、そして、この変動率の違いは、合成 / 分解によるターンオーバー速度がサブユニット間で異なることに起因している事を明らかにした。さらに、この時、M 期において特定のサブユニット種の含量が減少した CCT 複合体は folding を助ける分子シャペロン機能が極端に低下していることを見いだした。また、in vivo においても、CCT の発現量が細胞の増殖に応じて増大することを、原発性の肝細胞ガンおよび大腸ガン組織と正常組織とを比較することによって明らかにした。そこで、各サブユニットの詳細な発現調節機構について研究を進めている。

The major topics in the Department of Molecular and Cellular Biology is to study the stress response and the regulation and function of molecular chaperone/stress proteins. We are focusing mainly on three topics in this field.

We found and cloned the gene of a novel stress protein HSP47 which resides in the endoplasmic reticulum (ER) acting as a collagen-specific molecular chaperone in the pathway of collagen biosynthesis, processing and secretion. HSP47 specifically and transiently binds to various types of collagen in the ER. In addition to the binding specificity to collagen, the expression of HSP47 is always closely correlated with those of collagens during the normal development

of mouse embryo as well as in the pathophysiological conditions including liver and renal fibrosis.

We already succeeded in making knockout mice lacking *hsp47* gene, which resulted in causing the embryonic lethality at 10.5 dpc in *hsp47*^{-/-} homozygotic mice. In these homozygotic mice, the maturation of type I collagen was abnormal and the immature form of procollagen accumulated in the tissues. Thus, collagen fibrils in mesenchymal tissues were hardly observed in homozygous mice. The processing of type IV procollagen was also impaired, and basement membranes were discontinuously disrupted between the epithelial and mesenchymal tissues. This is the first finding revealing that the knockout of a chaperone protein causes the abnormality in molecular maturation of its substrate.

This year, we have succeeded to reveal the substrate-specificity recognized by HSP47, the failure in the formation of basement membrane in embryoid bodies formed from *hsp47*^{-/-} ES cells, and the novel transcription factors regulating the expression of HSP47.

The second project in our lab is the study of a novel ER-resident stress protein, EDEM. The quality control mechanism in the endoplasmic reticulum (ER) discriminates correctly folded proteins from misfolded polypeptides and determines their fates. Once the proteins synthesized in the ER are terminally misfolded, they are retrotranslocated from the ER and degraded by the cytoplasmic proteasome, a mechanism known as ER-associated degradation (ERAD). Edem is a putative type II transmembrane protein in the ER and the expression of its mRNA is induced by various types of ER stress. Overexpression of EDEM in human embryonic kidney 293 cells accelerated the degradation of misfolded α_1 -antitrypsin, and EDEM bound to this misfolded glycoprotein. These data suggest that EDEM is directly involved in ERAD, and possibly targets misfolded glycoproteins to degradation in N-glycan dependent manner.

This year, we found that ER mannosidase I, which possesses the trimming activity of a mannose residue resulting in forming mannose8form of N-glycan, also has the enhancing activity of ERAD when it is overexpressed in 293 cells. We are now studying to reveal the interacting proteins with EDEM in the ER.

The third project in our lab., the function and expression of cytosolic chaperonin CCT, achieved further progress. CCT is a molecular chaperone that acts in the eukaryotic cytosol. CCT is known to assist in the folding of actin, tubulin and other proteins in the presence of ATP. CCT complex contains 16 subunits and has a double-ring structure with 8-fold rotational symmetry. Eight subunit species of CCT are commonly found in mammalian somatic cells. We found that the CCT complex changes chaperone activities concomitant with subunit composition upon arrest and resumption of the cell cycle in mammalian cells. The levels of particular subunits changed with significantly higher rates than those of the other subunits when FM3A cells were arrested at S phase or M phase. The CCT complex of S phase-arrested cells was more active in binding and folding denatured actin in vitro, when compared with that of M phase-arrested cells. Control of subunit contents likely to play a crucial role in CCT-assisted protein folding during cell cycle progression. We also found that CCT is upregulated in colon and hepatic cancer tissues, indicating in vivo upregulation of CCT during cell growth. We are currently analyzing detailed mechanisms of the transcriptional regulation of CCT subunit genes.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

- Koide, T., Takahara, Y., Asada, S. & Nagata, K.: Xaa-Arg-Gly triplets in the collagen triple helix are dominant binding sites for the molecular chaperone HSP47. *J. Biol. Chem.* (in press)
- Nishizawa, J., Nakai, A., Komeda, M., Ban, T. & Nagata, K.: Increased preload directly induces the activation of heat shock transcription factor 1 in the left ventricular overloaded heart. *Cardiovascular Research* (in press).
- Nakatsukasa, K., Nishikawa, S., Hosokawa, N., Nagata, K. & Endo, T.: Mnl1p, an α -mannosidase-like protein in yeast *Saccharomyces cerevisiae*, is required for ER associated degradation of glycoproteins. *J. Biol. Chem.* **276**: 8635-8638 (2001).
- Hosokawa, N., Wada, I., Hasegawa, K., Yorihuri, T., Tremblay, L.O., Herscovics, A. & Nagata, K.: A novel ER α -mannosidase-like protein accelerates ER-associated degradation. *EMBO Reports* **2**: 415-422 (2001).
- Naitoh, M., Hosokawa, N., Kubota, H., Tanaka, T., Shirane, H., Sawada, M., Nishimura, Y. & Nagata, K.: Upregulation of HSP47 and collagen type III in the dermal fibrotic disease, keloid *Biochem Biophys Res Commun.* **280**: 1316-1322 (2001).
- Matsushita, O., Koide, T., Kobayashi, R., Nagata, K. & Okabu, A.: Substrate recognition by the collagen-binding domain of clostridium histolyticum class I collagenase. *J. Biol. Chem.* **276**: 8761-8770 (2001).
- Kikuchi, M., Takeda, C., Tsujimoto, Y., Asada, S. & Nagata, K.: A single chain Fv fragment 2A3 specific for native lysozyme: Isolation from a human synthetic phage display antibody library and characterization. *J. Biochem.* **129**: 237-242 (2001).
- Matsuda, M., Koide, T., Yorihuri, T., Hosokawa, N. & Nagata, K.: Molecular cloning of a novel ubiquitin-like protein, UBIN, that binds to ER targeting signal sequences *Biochem Biophys Res Commun.* **280**: 535-540 (2001).
- Murakami, S., Toda, Y., Seki, T., Munetomo, E., Kondo, Y., Sakurai, T., Fukukawa, Y., Matsuyama, M., Nagata, T., Hosokawa, N. & Nagata, K.: Heat shock protein (HSP) 47 and collagen are upregulated during neointimal formation in the balloon-injured rat carotid artery. *Atherosclerosis* **157**: 361-368 (2001).
- Yokota, S., Yamamoto, Y., Shimizu, K., Momoi, H., Kamikawa, T., Yamaoka, Y., Yanagi, H., Yura, T. & Kubota, H.: Increased expression of cytosolic chaperonin CCT in human hepatocellular and colonic carcinoma. *Cell Stress Chaperones* **6**: 345-350 (2001).
- Yokota, S., Yanagi, H., Yura, T. & Kubota, H.: Cytosolic chaperonin CCT changes contents of particular subunit species concomitant with substrate binding and folding activities during the cell cycle. *Eur. J. Biochem.* **268**: 4664-4673 (2001).

2) 著書

- 永田和宏：分子シャペロンによる細胞機能制御（永田和宏・森正敬・吉田賢右共編）「分子シャペロンによる細胞機能制御」（シュプリンガー・フェアラーク，東京）i-iii（2001）
- 永田和宏：コラーゲン特異的分子シャペロン Hsp47（永田和宏・森正敬・吉田賢右共編）「分子シャペロンによる細胞機能制御」（シュプリンガー・フェアラーク，東京）68-69（2001）

永田和宏：フォールディングによる品質管理（永田和宏・森正敬・吉田賢右共編）「分子シャペロンによる細胞機能制御」（シュプリンガー・フェアラーク，東京）88-99（2001）

久保田広志：サイトゾルのシャペロニン CCT（永田和宏，森正敬，吉田賢右共編）「分子シャペロンによる細胞機能制御」（シュプリンガー・フェアラーク，東京）50-51（2001）

3）総 説

Koide, T., Takahashi, Y., Asada, S., Nagata, K. & Ito, Y.: Substrate recognition of collagen-specific molecular chaperone HSP47: contribution of arginine residue in the triple helical substrates. (Ed. T. Shioiri) *Peptide Science* 2000 159-162 (The Japanese Peptide Society 2001)

永田和宏：コラーゲン生合成に必須の分子シャペロン HSP47と疾患
バイオサイエンスとインダストリー 59 : 35-36 (2001)

◆ 学会等の発表 ◆

1）学会・研究会発表

細川暢子，永田和宏：分子シャペロンによるコラーゲンの分子構築制御，京都大学再生医科学研究所学術講演会「21世紀における再生医学への展望」（2001 3 21 京都）

Kubota, H., Yokota, S., Yamamoto, Y., Ysmaoka, Y., Yanagi, H., Yura, T. & Nagata, K.: Upregulation of cytosolic shaperonin CCT in human colon and liver cancers. 8th CGGH Symposium (2001.8.6-9 Sapporo)

久保田広志，横田伸一，山本雄造，山岡義生，杉田かよ子，田中敏憲，白根博文，内藤素子，澤田正樹，柳秀樹，由良隆，永田和宏：シャペロン CCT のガンにおける発言上昇，第74回日本生化学会大会（2001 .10 25-28 京都）

久保田広志，永田和宏：細胞質シャペロニン Cctd 遺伝子の転写調節配列，第24回日本分子生物学会年会（2001 .12 .9 -12 横浜）

小出隆規，幸剛史，永田和宏：プロコラーゲンプロリン 4-水酸化酵素のペプチド結合の解析，第38回ペプチド討論会（2001 .10 3-5 長崎）

小出隆規，幸剛史，永田和宏：プロリン 4-水酸化酵素のプロコラーゲン認識，第74回日本生化学会大会（2001 .10 .25 -28 京都）

Yasuda, K., Hirata, H., Hirayoshi, K., Hosokawa, N. & Nagata, K.: Identification of cis-element regulates the cell type-specific expression of HSP47, 8th CGGH Symposium (2001.8.6-9 Sapporo)

安田邦彦，塚本吉胤，永田和宏：Hypoxia による高分子量ストレスタンパク HSP105の誘導，第54回日本細胞生物学会大会（2001 5 29-6 .1 岐阜）

安田邦彦，平芳一法，平田普三，久保田広志，細川暢子，永田和宏：コラーゲン特異的分子シャペロン，HSP47の発現調節領域の同定，第24回日本分子生物学会年会（2001 .12 9-12 横浜）

Matsuoka, Y., Adachi, E., Nagai, N., Hosokawa, N., Kubota, H. & Nagata, K.: Hsp47-knockout embryonic stem cells are deficient in basement membrane formation during embryonic development, 8th CGGH Symposium (2001.8.6-9 Sapporo)

松岡泰弘，安達栄治郎，永井尚子，細川暢子，久保田広志，永田和宏：HSP47ノックアウト ES 細胞からの embryoid

body の形成：基底膜形成異常，第54回日本細胞生物学会大会（2001 5 29-6.1 岐阜）

関 隆行，村上 茂，戸田喜久，宗友栄二，近藤友紀子，櫻井孝信，大塚陽子，松山誠孝，長手尊俊，細川暢子，
永田和宏：ラット頸動脈バルーン傷害後の血管平滑筋細胞における heat shock protein (HSP) 47とコラー
ゲンの発現亢進，第54回日本細胞生物学会大会（2001 5 29-6.1 岐阜）

中務邦雄，西川周一，細川暢子，永田和宏，遠藤斗志也：新規小胞体 α -mannosidase 様蛋白質 (Mnl 1 p) は糖蛋
白質の小胞体蛋白質分解 (ERAD) に関与する，第54回日本細胞生物学会大会（2001 5 29-6.1 岐阜）

Takahashi, K., Marutani, T., Murakami, K., Iizuka, T., Nagata, K : Rescue for Embryonic lethality of collagen binding
chaperone HSP47knock-out mice in first Branchial arch explant, 14th International Congress of Developmental
Biology (2001.7.8-12 Kyoto)

高橋佳史，浅田真一，永田和宏，小出隆規：47-kD heat shock protein (HSP47) のプロコラーゲン認識，第74回日
本生化学会大会（2001 .10 25-28 京都）

安井典久，森戸大介，永田和宏，小出隆規：色素上皮由来因子 (PEDF) のコラーゲン認識，第74回日本生化学会
大会，(2001 .10 25-28 京都)

加納ふみ，近藤久雄，細川暢子，永田和宏，村田昌之：小胞体の細胞周期依存的ダイナミクスの再構成と生化学的
解析，第74回日本生化学会大会（2001 .10 25-28 京都）

野崎潤一，内藤素子，久保田広志，小泉昭夫，永田和宏：インスリン変異体 “ Mody ” を有するアキタマウスより
樹立した膵ラ氏島 β 細胞株における小胞体ストレス応答，第 6 回臨床ストレス蛋白質研究会（2001 .11 2-3
小樽）

山崎裕自，久保田広志，永田和宏：細胞質シャペロニン CCT の θ サブユニットをコードする遺伝子 Cctq の転写
活性制御，第24回日本分子生物学会年会（2001 .12 9-12 横浜）

2) 講演・シンポジウム

Nagata, K. & Hosokawa, N. : EDEM, a putative mannose8-lectin, is involved in the ER associated degradations (ERAD),
EuroConference and EMBO workshop (2001.5.29 Sant Feliu de Guixols, Spain)

Nagata, K. : Quality control of the nascent proteins in the endoplasmic reticulum. Max Planck Institute seminar,
(2001.6.3 Martinsried, Germany)

Nagata, K. & Hosokawa, N. : Quality control in the ER ; HSP47 and EDEM, Joint Meeting : FEBS & PABMB, (2001.7.2
Lisbon)

Nagata, K. : Roles of collagen-specific molecular chaperone HSP47 in tissue formation And development, 8th CGGH
Symposium “New paradigms of Molecular Chaperones in the Postgenome Era” (2001.8.7 Sapporo)

永田和宏：分子シャペロンの基礎と病態，第74回日本薬理学会年会シンポジウム（2001 3 21 横浜）

永田和宏：小胞体品質管理機構と分子シャペロン 科学技術振興事業団・戦略的基礎研究推進事業シンポジウム「生
体防御のメカニズム」(2001 6 7 東京)

永田和宏：分泌蛋白質の小胞体品質管理機構と分子シャペロン 第19回内分泌・代謝学サマーセミナー（2001 7 .12
名古屋）

永田和宏：分子シャペロンによる蛋白質の品質管理と病態，第24回健康指標プロジェクト例会(2001 9 22 京都)

永田和宏：コラーゲン特異的分子シャペロンの作用機構と線維化疾患，第 5 回肝臓分子生物学研究会（2001 .10 27
京都）

永田和宏：分子シャペロンによる蛋白質の品質管理と病態，札幌医科大学大学院特別講義（2001.11.1 札幌）

永田和宏：小胞体における蛋白質の品質管理戦略：蛋白質の genetics と epigenetics，第23回日本基礎老化学会秋期シンポジウム（2001.12.1 松本）

Hosokawa, N. & Nagata, K.: A novel ER α -mannosidase-like protein accelerates ER-associated degradation, 8th CGGH Symposium "New paradigms of Molecular Chaperones in the Postgenome Era" (2001.8.7, Sapporo)

細川暢子，和田郁夫，永田和宏：小胞体関連分解“シグナル”認識機構，第74回日本生化学会大会（2001.10.28 京都）

細川暢子，永田和宏：小胞体ストレスと小胞体関連分解，千里ライフサイエンスセミナー（2001.12.14 豊中）

内藤素子，細川暢子，久保田広志，澤田正樹，永田和宏，西村善彦：ケロイド，肥厚性瘢痕における HSP47 の発現について，第7回ケロイド，肥厚性瘢痕研究会（2001.3.3 東京）

内藤素子，久保田広志，山崎裕自，澤田正樹，永田和宏，西村善彦：ケロイド，肥厚性瘢痕における分子シャペロン HSP47 と CCT の発現，第10回日本形成外科学会基礎学術集会（2001.10.19 東京）

加納ふみ，近藤久雄，細川暢子，永田和宏，村田昌之：セミンタクト細胞を用いた細胞周期依存的な ER ダイナミクスの再構成と解析，第54回日本細胞生物学会大会ワークショップ「シグナル分子のイメージング」（2001.5.30 岐阜）

生体微細構造学分野

Department of Ultrastructural Research

【研究概要】

肺組織傷害の修復における肺胞Ⅱ型上皮細胞の動態 肺の傷害時に脱落した肺胞Ⅰ型上皮細胞がⅡ型上皮細胞で置き換えられ，これがⅠ型細胞に変化して修復が行われると考えられている．試験管内実験ではそれに際して，いくつかの遺伝子の発現に変化がみられることを検討してきた．生体での組織傷害修復過程における上皮細胞の動態は皮膚ではよく解析されているが，肺ではあまり詳しくは調べられていない．これを明らかにするために，軽度の肺組織傷害の治癒過程におけるⅡ型上皮細胞の動態を検討した．ラットの気管内に少量の希塩酸を投与すると気管支周囲に限局した複数の病巣が作られるが，2週間で病変はほとんど消失する．処置後2，3日目には多数の異型上皮細胞が病巣を直接被覆するとともに，病巣内に侵入しており，これらの大多数が PCNA 染色陽性を示す．病巣からやや離れた肺組織では，Ⅱ型上皮細胞の数が対照部位に比べて約2倍に増加しているが PCNA 染色は陰性であり，病巣近くへ遊走してきたⅡ型上皮細胞が病巣で増殖し組織修復に関与すると考えられる．線維化の始まった7日目の病巣でもⅡ型上皮細胞が単独あるいは小管腔を形成して侵入しており，引き続き肺胞の新生が行われて傷害部位をほぼ完全に修復すると思われる．これらの細胞では，胎児肺形成に関与すると最近報告された TNF α -変換酵素の発現が増加していた．ヒトの急性肺傷害では，悪性細胞と鑑別の困難な異型細胞が出現するが，このような異型Ⅱ型細胞が肺の組織修復に関わるとも考えられる．プレオマイシンによる実験的な肺傷害では，HGF や KGF の前投与により増殖した肺胞Ⅱ型上皮細胞が肺傷害を顕著に軽減することが報告されている．肺線維症のうちでも特に通常型肺線維症は予後不良であり治療法は見だされていないが，Ⅱ型上皮細胞を利用した治療法の開発

も、将来可能になるかもしれない。

(文責 鈴木)

RNA aptamer に関する研究 RNA aptamer の基礎、応用分野における有用性について研究を進めている。RNA aptamer は in vitro 選択法によって獲得される、機能を持つ RNA 分子のことである。RNA 自体の高次構造によって、特定の物質に結合し、抗体や酵素のように種々の機能を発揮する。我々の従来の研究テーマである “ Paused polymerase の成立と機能の解析 ” で最初にこの分子の導入を試みた。Paused polymerase は、初期転写複合体の形成からプロモータークリアランスの過程を経て、真の転写伸長反応にいたる過程で、その動きを停止している。従来の研究方法では生体内での複雑な複合体をそのままの形で解析する事が困難であり、新しい方法論の導入が必要であった。初期転写複合体において核として働く TBP (TATA 結合因子) に対する aptamer をいくつか選択した。それぞれの aptamer の転写に与える影響を解析したところ、転写を阻害するものと促進するものの二つのタイプのもを選択する事ができた。現在、それぞれの aptamer について解析を進めている。aptamer の広範な応用性を確認するため、いくつかの分子に対して aptamer の選択を行っている。

(文責 平芳)

Movement of type II epithelial cells in the repair of lung damage Movement of epithelial cells in the repair of skin wound has been well characterized but not in the lung damage. To investigate how the epithelial cells are involved in the repair process of lung damage, movement of type II epithelial cells was analyzed in mild lung damage. Lung damage was induced by tracheal instillation of dilute hydrochloric acid. At early stages (2 to 4 days) after wounding atypical type II epithelial cells migrated to the wounded region and proliferated at the periphery of the wound as shown by nuclear staining of PCNA. Many atypical cells invaded into the lesion and were found to form new alveoli. At later stages (7 to 14 days) type II cells still invaded into partly fibrous matrix and continued to form new alveoli resulting complete repair of the damaged lung from periphery of the lesion. These cells expressed increased TNF-alpha converting enzyme, which was recently reported to be important in branching morphogenesis of fetal lungs. In the acute lung damage in human, atypical cells appear which are indistinguishable from malignant cells and it is supposed that these atypical cells participate in the repair. Proliferating type II cells by pretreatment with HGF and KGF attenuate lung damage induced by Bleomycin. It may be possible to develop some treatment for lung fibrosis such as UIP by utilizing type II epithelial cells.

Studies on RNA aptamer Multiprotein complexes drive a variety of highly regulated biological processes such as transcription regulation. To understand such complicated process in vitro, conventional methods are insufficient. We introduced a new methodology “aptamer” for detail analyses of preinitiation complex of transcription. Aptamer is an RNA molecule with function such as binding ability to other molecule, enzymatic activity and so on. Employment of aptamer as a tool for dissecting complex would provide an innovative method. As a first approach, we are selecting aptamer against to TBP bind to TATA. We isolated two types of aptamer. One can promote transcription and one can inhibit transcription. We now analyze the function of these aptamers. These aptamers will show us the architecture of that complex.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

Tashiro, K., Yamada, K., Konzaki, T., Yamamoto, K., Ohmura, S., Kobayashi, T. & Suzuki, Y. : Aerosolized surfactant therapy at various durations for acute lung injury caused by intratracheal endotoxin in rats. *Brit. J. Anesthes.* **87** : 266-271 (2001).

李 中原, 鈴木康弘: ラット肺胞Ⅱ型上皮細胞の N-deacetylase/sulfotransferase の発現に対する herbimycin A と lithium chloride の影響, *日本界面医学会雑誌* **32** : 38-45 (2001).

Hanada, K., Solchaga, L.A., Caplan, A.I., Hering, T.M., Goldberg, V.M., Yoo, J.U. & Johnstone, B. : BMP-2induction and TGF- β 1modulation of rat periosteal cell chondrogenesis. *J. Cell Biochem.* **81** : 284-294 (2001).

Xing, Y., Nakamura, A., Chiba, T., Kogishi, K., Matsushita, T., Li, F., Guo, Z., Hosokawa, M., Mori, M. & Higuchi, K. Transmission of mouse senile amyloidosis. *Lab. Invest.* **81** : 493-499(2001).

◆ 学会等の講演 ◆

Osanai, K., Tsuchihara, C., Suzuki, S., Tsuchihara, K., Okada, T., Nambu, Y., Sakuma, T., Toga, H., Takahashi, K., Ohya, N., & Suzuki, Y. : Trafficking of newly synthesized surfactant in isolated alveolar type II cells. , 第41回日本呼吸器学会 International Program (2001 4 4 東京)

鈴木康弘, 李 中原: 肺胞Ⅱ型上皮細胞におけるヘパラン硫酸・N-硫酸転移酵素の発現制御, 第90回日本病理学会総会 (2001 4 5 東京)

千葉陽一, 上野正樹, 西村泰光, 小岸久美子, 藤澤裕美, 秋口一郎, 坂本晴彦, 山下剛徳, 細川昌則: SAM11マウス新生仔皮膚由来培養線維芽細胞にみられるミトコンドリア機能障害と高酸化的ストレス状態, 第17回老化促進モデルマウス (SAM) 研究協議会研究発表会 (2001 7 .13 京都)

千葉陽一, 上野正樹, 松下隆壽, 西村泰光, 小岸久美子, 藤澤裕美, 秋口一郎, 坂本晴彦, 細川昌則: 老化促進モデルマウス (SAM) 由来培養線維芽細胞におけるミトコンドリア機能障害と高酸化的ストレス状態, 第33回日本臨床電子顕微鏡学会学術講演会 (2001 9 27 長崎)

田代勝己, 崔暁光, 紺崎友晴, 山田圭輔, 小林 勉, 鈴木康弘: 実験的胎便吸入症候群を呈したラットに対するサーファクタントの注入法と吸入法の比較, 第37回日本界面医学会総会 (2001 .10 6 札幌)

Furuya, K., Yamamoto, N., Nejishima, H., Ichikawa, K., Amano, S., Tsunashima, M., Sumita, Y., Inoguchi, K., Miyakawa, M., Nakamura, T., Hanada, K. : Novel, non-steroidal selective androgen receptor modulators (SARMs) increase bone mass and reduce androgenic virilizing effects in adult osteoporotic rats, 23th Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research (2001.10.12-16 Phoenix)

小岸久美子, 松下隆壽, 是永龍巳, 細川昌則, 鈴木康弘, 樋口京一: マウス老化アミロイドーシス線維形成修飾因子の解析, 第26回京都大学技術職員研修 (2001 .11 21 京都)

法邑賢一, 平芳一法: RNA aptamer を用いた転写調節機構の解析, 第24回日本分子生物学会年会 (2001 .12 .12 横浜)

生体機能調節学分野

Department of Experimental Pathology

【研究概要】

(1) 免疫寛容の基礎的研究

正常な免疫系は、非自己抗原に対して免疫応答を示すが、正常自己構成成分に対しては応答しない。このような免疫自己寛容の基礎的メカニズム、およびその破綻としての自己免疫病の原因・発症機構を研究している。これまでに、制御性T細胞が自己反応性T細胞の制御に重要であり、その機能異常により自己免疫病が発症することを示した。現在、制御の分子の基盤を解析している。本年度、制御性T細胞による抑制に関与する分子をモノクローナル抗体を作製し解析を進めた結果、我々がDTA-1分子と名づけた分子の機能を阻害すると抑制活性が失われること、またDTA-1分子を発現するT細胞群を除去すると激しい自己免疫病が発症することを見出した。DTA-1分子をコードする遺伝子の発現クローニングを行なった結果、その遺伝子はGITR (glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor superfamily-related gene) と同一であった。現在、そのリガンドの解析を進めている。

(2) 腫瘍免疫、移植免疫の基礎的研究

癌患者の腫瘍反応性リンパ球が認識する腫瘍抗原の多くは正常自己抗原である。即ち、腫瘍免疫の一部は自己免疫と捉えることができる。現在までに、制御性T細胞(上述)に特異的モノクローナル抗体の生体内投与により、制御性T細胞(上述)を一定期間除去すれば自家腫瘍に対して有効な免疫応答が誘導できるとの結果を得ている。これらの結果に基づき、免疫自己寛容の操作による新しい腫瘍免疫療法の可能性を現在検討している。本年は、上述の抗DTA-1(GITR)抗体の生体内投与により有効な腫瘍免疫を惹起できるとの結果を得て、さらに解析を進めている。

一方、制御性T細胞の増殖あるいは機能強化を図り、免疫反応を抑制できるか検討した。上述の制御性T細胞を、試験管内で抗原刺激とともに増殖させる条件を探っている。現在までに、増殖させた制御性T細胞群は試験管内でリンパ球混合反応を強力に抑制するとの結果を得た。この結果は、免疫自己寛容機構を操作し、移植臓器に対する安定・安全な免疫寛容を誘導できる可能性を意味する。さらに、様々なモノクローナル抗体投与により制御性T細胞を生体内で操作し、移植臓器に対する免疫寛容を誘導しようとしている(本学客員教授Kathryn Wood博士との共同研究)。

(3) 新しい動物モデルを用いた慢性関節リウマチ(リウマチ様関節炎)の原因・発症機構の研究

免疫病理学的にヒトのリウマチ様関節炎と酷似する慢性関節炎を自然発症するマウスモデルを確立し、その原因・発症機構を解析している。この関節炎は、正常関節抗原を認識・攻撃するT細胞による自己免疫性関節炎である。その原因は、常染色体劣性遺伝を示す単一遺伝子の異常である。昨年、この原因遺伝子の染色体上での位置を決定し、遺伝子の位置クローニングを進め、候補遺伝子を同定した。遺伝子の構造解析から一塩基突然変異が原因と考えられた。本年、同遺伝子の正常型をトランスジーンとして発現させた結果、関節炎の発症を阻止できた。現在、ヒトの慢性関節リウマチ患者の一部に同様の遺伝子変異がみられるか検討している。

This department studies: (i) the cellular and molecular basis of immunologic self-tolerance and the etiopathology of autoimmune disease; (ii) the strategy for eliciting effective immune responses to autologous tumor cells, or

inducing immunologic tolerance to organ transplants, by manipulating the mechanism of immunologic self-tolerance ; and (iii) the cause and pathogenetic mechanism of rheumatoid arthritis.

One aspect of immunologic self-tolerance (i.e., immunological unresponsiveness of the normal immune system to normal self-constituents) is maintained by a T cell-mediated dominant control of self-reactive T cells. We showed that elimination of a T-cell subpopulation expressing CD25, which constitutes 5-10% of the peripheral CD4⁺ T cells and less than 1% of CD8⁺ T cells in normal individuals, elicits various autoimmune diseases immunopathologically similar to human counterparts (e.g., insulin-dependent diabetes mellitus, autoimmune thyroiditis, and autoimmune gastritis with pernicious anemia). Functional characterization of this immunoregulatory CD25⁺ CD4⁺ T-cell population revealed that it potentially suppressed the activation/proliferation of other T cells in a cell to cell contact manner on antigen-presenting cells. This year, we have attempted to characterize cell surface molecules functionally engaged in the CD25⁺ CD4⁺ T cell-mediated regulation. By raising monoclonal antibodies capable of neutralizing the suppression and by cloning the gene coding for such molecules, we have shown that GITR (glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor superfamily-related gene) play a key role in the regulation. Administration of anti-GITR monoclonal antibody elicited autoimmune disease in otherwise normal mice. To further elucidate the molecular basis of the regulation, we are currently characterizing the ligand molecule of GITR.

We have also investigated whether manipulation of the CD25⁺ CD4⁺ T-cell population can break immunological unresponsiveness to autologous tumor cells and evoke effective immune responses to them. Removal of the population for a limited period indeed led to the rejection of tumor cells in vivo. This year, we have shown that treatment of tumor-bearing mice with anti-GITR monoclonal antibody can provoke effective tumor immunity by neutralizing CD25⁺ CD4⁺ T cell-mediated immunoregulation. This novel way of evoking tumor immunity would help to devise effective immunotherapy for cancer in humans.

We are also investigating the cause and pathogenetic mechanism of rheumatoid arthritis (RA) by analyzing a mouse model newly established in our department. We showed that the arthritis in this model was autoimmune and mediated by CD4⁺ self-reactive T cells, and that the cause of arthritis was an autosomal recessive abnormality of a single gene. This year, we have identified the gene by positional gene cloning. Furthermore, transgenic expression of the normal counterpart of the gene inhibited the development of arthritis. We are currently conducting the survey of RA patients to determine whether the same or similar genetic abnormalities can be responsible for in some patients.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

Shimizu, J., Yamazaki, S., Takahashi, T., Ishida, Y. & Sakaguchi, S.: Immunologic self-tolerance is broken by stimulating CD25⁺ CD4⁺ regulatory T cells through GITR, a TNF receptor superfamily protein. *Nature Immunol.* (In press).

Takahashi, T. & Sakaguchi, S.: Immunologic tolerance maintained by regulatory T cells. *Int. Rev. Cytology*. (in press).

Sakihama, T., Nishimura, E. & Sakaguchi, S.: Suppression of in vivo and in vitro allogeneic immune responses by CD25⁺ CD4⁺ regulatory T cells. *J. Exp. Med.* (in press).

- Sakaguchi, S., Sakaguchi, N., Shimizu, J., Yamazaki, S., Sakihama, T., Itoh, M., Kuniyasu, Y., Nomura, T., Toda, M. & Takahashi, T. : Immunologic tolerance maintained by CD25⁺ CD4⁺ regulatory T cells : their common role in controlling autoimmunity, tumor immunity, and transplantation tolerance. *Immunol. Rev.* **182** : 18-32(2001).
- Sakaguchi, S. : Regulation of immune responses. In Clinical Immunology. 2nd ed. Rich, R. R., Fleisher, T. A., Shearer, W. T., Schraeder, Jr. H. W., & Kotzin, B. L. (Eds), Mosby, London. **15** : 1-11(2001)
- Sakaguchi, S., Takahashi, T., Yamazaki, S., Kuniyasu, Y., Itoh, M., Sakaguchi, N. & Shimizu, J. : Immunologic self-tolerance maintained by T cell-mediated control of self-reactive T cells : implications for autoimmunity and tumor immunity. *Microbes and Infection.* **3** : 911-918(2001).
- Sakaguchi, S. : Policing the regulators. *Nature Immunol.* **2** : 283-284(2001).
- Kumanogoh, A., Wang, X., Lee, I., Watanabe, C., Shi, W., Yoshida, K., Habu, S., Itoh, M., Sakaguchi, N., Sakaguchi, S. & Kikutani, H. : Increased T-cell autoreactivity in the absence of CD40-CD40 ligand interactions : A role of CD40 in regulatory T cell development. *J. Immunol.* **166** : 353-360(2001).

2) 総説

- 高橋武司, 坂口志文 : T 細胞による自己寛容の制御 炎症と免疫 (印刷中).
- 坂口教子 : 関節炎モデル . 医学のあゆみ (印刷中)
- 堀昌平, 坂口志文 : 末梢性免疫寛容のメカニズム , 医学のあゆみ (印刷中)
- 坂口志文 : 腫瘍免疫と CD25⁺ CD4⁺ 制御性 T 細胞 . Medical Immunology (印刷中)
- 坂口志文 : 自己免疫としての A 型胃炎 . *G. I. Research* **9** : 72-77 (2001)
- 坂口志文 : 関節炎モデルマウス . *臨床リウマチ* **13** : 3-10(2001)

◆ 学会等の講演 ◆

1) 学会・研究会発表

- 高橋武司, 福井宣規, 笹月健彦, 坂口志文 : 免疫制御性 CD25⁺ CD4⁺ T 細胞の抗原特異性について . 第31回日本免疫学会 (2001 .12 .11-13 大阪)
- Sakaguchi, N. & Sakaguchi, S. : Thymus and T-cell dependency of spontaneous rheumatoid arthritis (RA)-like disease in mice. 11th International Congress of Immunology (2001.7.22-27 Stockholm)
- 坂口教子, 坂口志文 : リウマチ様関節炎を自然発症する SKG マウス胸腺における T 細胞選択異常 . 第11回 KTCC (2001 .6 .29-30 京都)
- 坂口教子, 坂口志文 : リウマチ様関節炎を自然発症する SKG マウス胸腺における T 細胞選択異常 . 第31回日本免疫学会 (2001 .12 .11-13 大阪)
- Sakihama, T. & Sakaguchi, S. : CD25⁺ CD4⁺ regulatory T cells are able to control allo-specific immune response. 11th International Congress of Immunology (2001.7.22-27 Stockholm)
- 先浜俊子, 坂口志文 : CD25⁺ CD4⁺ T cell によるアロ免疫反応の制御 . 第11回 KTCC (2001 .6 .29-30 京都)
- 先浜俊子, 坂口志文 : CD25⁺ CD4⁺ T cell によるアロ免疫反応の制御 第31回日本免疫学会 (2001 .12 .11-13 大阪)
- Yamazaki, S., Shimizu, J., Nishioka, K. & Sakaguchi, S. : Tumour Immunity evoked by eliminating CD25⁺ CD4⁺ regulatory T cells 11th International Congress of Immunology (2001.7.22-27 Stockholm)

山崎小百合, 清水 淳, 西岡 清, 坂口志文: CD25⁺ CD4⁺ T 細胞の操作による腫瘍免疫の誘導 第11回 KTCC (2001.6.29-30 京都)

山崎小百合, 清水 淳, 西岡 清, 坂口志文: CD25⁺ CD4⁺ T 細胞の操作による腫瘍免疫: 第31回日本免疫学会 (2001.12.11-13 大阪)

饗場祐一, 樋口哲也, 坂口教子, 坂口志文, 鏑田武志: SKG マウスの RA 様関節炎における B 細胞の関与. 第11回 KTCC (2001.6.29-30 京都)

三木一郎, 坂口志文: 慢性関節リウマチ様の関節炎を自然発症する SKG マウスの SPF 飼育下における関節炎の発症の検討. 第31回日本免疫学会 (2001.12.11-13 大阪)

畑 洋, 坂口教子, 中村孝志, 坂口志文: 慢性関節リウマチ様関節炎を自然発症する SKG マウスにおける炎症性サイトカインの役割. 第31回日本免疫学会 (2001.12.11-13 大阪)

瀬戸口留可, 高橋武司, 坂口志文: 免疫制御性 CD25⁺ CD4⁺ T 細胞の維持における B7 分子の役割. 第31回日本免疫学会 (2001.12.11-13 大阪)

2) 講演・シンポジウム

Sakaguchi, S.: Immunologic self-tolerance maintained by CD25⁺ CD4⁺ regulatory T cells. Keystone Symposium (2001.1.10-16 Keystone, USA)

Sakaguchi, S.: T cell-mediated control of self-reactive T cells: a common basis between autoimmunity and tumor immunity Univ. of Colorado (2001.1.16 Denver, USA)

坂口志文: 胸腺/T 細胞の操作による自己免疫病の誘導・制御: 特に自己免疫性胃炎について. 慶應義塾大学医学部 (2001.2.8 東京)

Sakaguchi, S.: Induction of polyendocrine autoimmune disease in animals by manipulating a regulatory T cell population: possible relevance to APECED. Keio Mini Symposium on "Genome Analysis of Chromosome21 and Autoimmune Disease" (2001.2.9 Tokyo)

坂口志文: リウマチ様関節炎を自然発症する SKG マウスについて. 自己抗体と自己免疫シンポジウム (2001.2.10 東京)

坂口志文: リウマチ様関節炎を自然発症するマウスモデルの確立とその原因・発症機構. 筑波リウマチシンポジウム (2001.3.9 筑波)

Sakaguchi, S.: Regulatory T cells-possible relevance to transplantation tolerance. FASEB2001 (2001.3.31-4.4 Orlando, USA)

坂口志文: RA 自然発症マウスモデルの解析に基づく RA の原因・発症機構について. 第90回日本病理学会総会 (2001.4.5-7 東京)

坂口志文: リウマチ様関節炎を自然発症するマウスモデルの確立とその原因・発症機構. 大阪大学医学部 (2001.4.27 大阪)

Sakaguchi, S.: Experimental autoimmune gastritis induced by manipulating regulatory T cells. American Association of Gastroenterology Annual Congress (2001.5.22 Atlanta, USA)

Sakaguchi, S.: Immunologic self-tolerance maintained by regulatory T cells. University of Virginia (2001.5.23 Charlottesville, USA)

Sakaguchi, S.: The role of regulatory T cells in immunologic self-tolerance. Georgia Medical College (2001.5.24)

Augata, USA)

Sakaguchi, S.: The role of regulatory T cells in immunologic self-tolerance. University of Alabama (2001.5.25 Birmingham, USA)

坂口志文：自己免疫，腫瘍免疫，移植免疫の共通基盤．第22回日本炎症・再生医学会（2001.7.2-3 東京）

坂口志文：CD25⁺ CD4⁺ 制御性T細胞による免疫自己寛容の維持機構及びその操作による腫瘍免疫の誘導．第5回基盤的癌免疫研究会総会（2001.7.18-19 津）

坂口志文：抑制性T細胞：自己免疫・腫瘍免疫・移植免疫の共通基盤について．日本免疫学会免疫サマースクール2001（2001.8.21-24 淡路島）

坂口志文：CD25⁺ CD4⁺ 制御性T細胞による免疫自己寛容の維持機構及びその操作による自己免疫，腫瘍免疫の誘導．第12回日本生体防御学会合同学術集会シンポジウム（2001.8.24-25 京都）

Sakaguchi, S.: Immunologic Self-tolerance maintained by CD25⁺ CD4⁺ regulatory T cells. The 7th International Workshop on Autoantibodies and Autoimmunity（2001.9.26-29 淡路島）

坂口志文：リウマチ様関節炎を自然発症するマウスモデルの確立とその原因・発症機構．第8回神奈川免疫アレルギー懇話会（2001.10.11 横浜）

Sakaguchi, S.: Maintenance of Immunologic Self-tolerance by regulatory T cells: Implication for autoimmunity, tumor Immunity and transplantation tolerance. Ulsan University (2001.10.26-27 Ulsan, Korea)

坂口志文：T細胞性制御による免疫寛容の導入と維持．第51回日本アレルギー学会総会シンポジウム（2001.10.29-31 福岡）

Sakaguchi, S.: Regulatory T cells: Key controllers of autoimmunity, tumor Immunity and transplantation tolerance . 第3回京都大学バイエルレクチャー（2001.11.5 京都）

Sakaguchi, S.: Regulatory T cells in immunologic tolerance. Glasgow Univ.(2001.12.3 Glasgow, UK)

Sakaguchi, S.: Immunologic Self-tolerance maintained by CD25⁺ CD4⁺ regulatory T cells. British Society for Immunology Congress 2001(2001.12.4-7 Harrogate, UK)

Sakaguchi, S.: Maintenance of Immunologic Self-tolerance by Regulatory T cells: Implication for Tumor Immunity and Transplantation tolerance.第31回日本免疫学会学術集会シンポジウム（2001.12.11-13 大阪）

Sakaguchi, S.: Maintenance of immunologic self-tolerance by regulatory T cells: implication for autoimmunity, tumor Immunity and transplantation tolerance . 第11回九州大学生体防御医学研究所国際シンポジウム（2001.12.14 福岡）

坂口志文：末梢性免疫寛容とCD25⁺ CD4⁺ 制御性T細胞．第24回日本造血細胞移植学会総会シンポジウム（2001.12.20-21 札幌）

坂口教子：T細胞機能異常による自己免疫性関節炎の発症.第29回日本臨床免疫学会総会シンポジウム(2001.12.10-11 大阪)



シミュレーション医工学分野 Department of Medical Engineering

【研究概要】

本研究室では、研究生体組織と力学的に調和する生体材料や人工臓器の開発など生体機能の再生を目的とした診断・治療の支援を行うために、コンピュータ科学や材料工学の手法を用いて、以下のような基礎的ならびに応用的研究を行っている。

1. 生体組織の力学的適応変形に関するシミュレーション

生体組織の力学的特性の解明を基本として、特に骨のモデリングならびにリモデリング現象など生体組織の力学的合理性の適応変形過程などについて数値シミュレーションを行っている。その結果、等応力分布あるいは等歪エネルギー密度分布などの制約関数に従って、各種骨組織の形態が形成されていることが示唆され、この制約の下に、生体組織と力学的に調和する人工歯根のデザインの創生を試みている。(産業技術総合研究所委託研究)

2. 人工歯根周囲における歯根膜の再生

現在の人工歯根は、天然歯根のように歯根膜を持たず、直接顎骨に固定させるので、咀嚼時の動的荷重が緩衝されず顎骨に伝わる。その結果、歯槽骨に過大な応力が発生して骨吸収が起こり、ゆるみが生じる危険性が高い。そこで、チタン製人工歯根をポリマーで被覆し、表面処理により細胞接着性タンパク質であるコラーゲンを固定化し、さらにその上に歯根膜細胞を培養し、歯根膜の再生を図っている。(文部科学省科学研究費補助金)(科学技術振興事業団委託研究)

3. MR Elastography (MRE) による in vivo 弾性率データの計測、解析および検証

磁気共鳴弾性率計測法(MRE)は、MRIをベースとする新たな測定技術であり、これによる体内組織・器官の非侵襲性弾性率計測の手法を確立し、医療研究支援用の生体組織データベースを構築する。また触感デバイスを用いた人工現実感(VR)によるVRモデルシステムを開発している。(医学研究科医療情報部との共同研究)

4. パラレルメカニズム咀嚼ロボット

歯科や外科領域での診断や手術では、人体構造の静的な位置情報だけでなく、動的な運動情報が予後を左右する。運動情報をコンピュータに取り込むためにパラレルメカニズムを採用したの多関節アームを開発してきたが、さらに駆動系を組み込んだパラレルロボットを開発し、個々の患者の口腔内模型を咀嚼中に計測した顎運動情報に基づいて運動させるシステムを開発した。(文部科学省科学研究費補助金)

5. 歯冠修復用高強度・高靱性ガラスセラミック材料と加圧成型システムの開発

優れた生体適合性と従来の歯科用ポーセレンよりも3～4倍高い曲げ強度と破壊靱性値をもつDiopside系ガラスセラミック材料を開発し、900度付近で加熱・加圧成型・結晶化するシステムなど加工性と審美性をも備えた新しい歯冠修復用材料を研究してきており、臨床試験の最終段階である。

6. 新しい生体材料としてのマグネシウム合金の開発

生体必須のミネラルであり、比強度がもっとも高い金属の一つであるマグネシウムは、体液中でアパタイトの沈着が速やかであり、新生骨との結合と転化に優れた特性を有することを見出しており、生体材料とくに人工骨用材料としての応用を目指している。(新エネルギー・産業技術総合開発機構助成金)(日本科学協会笹川科学研究助成金)

7. 人工関節軟骨・人工椎間板などの医療用ハイドロゲル

関節軟骨が持つ優れた力学的特性を具備した人工関節軟骨材を開発することにより、関節の病変部のみを置換し健全な軟骨下骨梁を残す新しい人工関節軟骨の開発を目指している。当研究室にて新しく開発した高強度・高弾性率ポリビニルアルコールハイドロゲルは人工関節軟骨・椎間板材料として有望である。(厚生労働省厚生科学研究費)

8. 耐摩擦・摩耗特性に優れた人工関節用ポリエチレン

人工関節の摺動部に使用される超高分子量ポリエチレンの摩耗粉により発生する不良肉芽組織が骨吸収を惹起する異物反応が問題となっている。そこで、物理的な改良法により最終成形物に分子配向と結晶面配向を導入することにより、耐摩耗性の改良を試み、良好な結果が得られている。

9. 生体組織と材料の衝撃吸収特性など力学的物性の測定ならびに解析

衝撃解析シミュレーションや生体を模した頸部モデルによる追突実験から、鞭打損傷の発生メカニズムを解明し、安全で快適な自動車シートの開発を試みている。また、スポーツ傷害を防止するための高衝撃吸収性ヘッドギアやマウスガードの材料開発と設計を行っている。

10. ポリフェノールによる細胞増殖制御と生体組織の長期間保存

緑茶ポリフェノールが種々の動物細胞の増殖を制御でき、細胞に対する無毒性の睡眠剤であることを見いだした。また、冬眠覚醒後ほぼ100%の細胞が増殖を再開することを明らかにした。更に、ラットの脾臓や大動脈が体温で数ヶ月間も保存でき、他のラットへの移植後に正常に数ヶ月間生存することも確認した。現在、ポリフェノールを用いた他の組織、例えば、ブタ膝関節軟骨、モルモット歯根膜、及び家兎角膜等に対する長期間保存の検討も行っており、良好な結果が得られている。

11. 骨格筋収縮エネルギーを利用した人工心臓駆動システム(筋肉の力学モデルの構築)

患者自身の筋肉を駆動力に用いる「骨格筋ポンプ」と呼ばれる新しいデバイスの開発を目的としている。広背筋と胸膜の間にバルーンを挟み込み、広背筋に電気刺激を与えて収縮させ、その収縮力を人工心臓の駆動力として有効に利用する。(立石科学技術振興財団助成金)

12. 生体形態計測システムと手術シミュレーション(顎変形症治療計画支援システム)

顎変形症手術に際しては、患者と術者とが術式の定量的検討と術後の咬合機能と顔貌の改善予測情報を確認して(informed consent)、望むことが極めて重要である。3次元画像を多用した、治療計画支援のためのシステムを開発している。(医学研究科口腔外科学講座との共同研究)

1. Simulation of Biomechanical Adaptation Process of the Living Tissues.

Numerical simulations are carried out especially on the modeling and remodeling phenomena of the bones as the biomechanical adaptation. With constraint functions such as stress distribution or strain energy density distribution, it is indicated that the form of the bone has been modeled, and the design of artificial dental roots which dynamically harmonizes with the living tissue under this constraint has been tried. (Joint research with the National Industrial Research Institute of Nagoya)

2. Regeneration of the periodontal Membrane around Dental Implant Roots.

The present artificial dental root is fixed directly in the alveolar bone without having periodontal ligament like natural tooth root, the stresses are directly transmitted without any damping effect. The excessive stresses in the alveolar bone may arise and cause the bone resorption by which the loosening of the implants occurs. Therefore, we

have been attempting that the dental implant made of titanium is covered with a polymer, and the collagen which is the cell adhesive protein is fixed by some surface treatments, and in addition, the periodontal ligament cell is cultivated on the surface for regeneration of the periodontal membrane.

3. MR Elastography Measurement, Analysis and Verification.

Magnetic resonance elastic modulus measurement method (MRE) of the elastic modulus is a new measuring technique based on the MRI, and it establishes the technique of the noninvasive elastic modulus measurement of the living tissue and organ in vivo. Database construction for the medical research support, and virtual reality (VR) system using the haptic device are investigated. (Sensible Human Project sponsored by the Science and Technology Agency : Joint Research with Medical Information Division, Kyoto University)

4. Kinematic Analysis of a mastication Robot employing the 6-degree-of-freedom parallel mechanism

Dynamic behaviors of the human body affect the diagnosis or the prognosis of operations in dental and surgery fields. In our laboratory, mastication robot is developed in order to represent the human mandibular dynamics ; i.e. not only kinematics but also pressure acting between jaws. The robot employs the 6-degree-of-freedom parallel mechanism in order to decrease the positional information errors. (Supported by Ministry of Culture, Science and Education)

5. Development of glass ceramics with high strength and toughness and pressure forming systems for restorative crown materials

Diopside glass ceramics is known as biocompatibility. Moreover, we have been developing the ceramics to have 3 and 4-fold higher the strength and toughness than the used dental porcelains. The crystallization system with heating and pressure molding is developed and now is running a clinical trial. (Supported by Ministry of Culture, Science and Education)

6. Development of magnesium alloys as biomaterials.

Magnesium offers several advantages such as low density, high specific strength to weight ratio, good castability, non-toxic. Moreover, magnesium is an essential element in human body. The present study is carried out to evaluate magnesium in medical and dental applications and to examine its corrosion behavior. (Supported by New Energy and Industrial Technology Development Organization)

7. New Artificial Articular Cartilage and Intervertebral Disk.

Development of the artificial cartilage and intervertebral disk is necessary in order to recover support and mobility simultaneously in joints and spine which received the damage. We examined the possibility of the application of polyvinyl alcohol hydrogel which can control the mechanical strength by the change of water content and is excellent in the biocompatibility. It replaces only lesion part and leaves the sound subchondral bone. The high strength and high elastic modulus of the polyvinyl alcohol hydrogel newly developed in this department is promising as artificial articular cartilage and intervertebral disk material.

8. Polyethylene for Artificial Joints with High Wear Resistance.

The wear particles of polyethylene are produced by the friction between the metal and UHMWPE when artificial joint used for the long term. It is known that the osteolysis occurs by foreign body granulation tissue which the wear particle induces. The development of new UHMWPE for artificial joint which controlled super structure by the crystallization under molecular orientation is being tried in order to improve abrasion resistance of UHMWPE.

9. Measurement and Analysis of Impact Energy Absorption of the Living Tissues and Biomaterials.

By computer simulations and experiments with anatomical cervical model in rear-end collision, the generation mechanism of the whiplash injuries is clarified, and the development of the safe automobile seat is being tried. (Advanced Safety Vehicle Project sponsored by the Ministry of Transportation)

10. Proliferation Control of Mammalian Cells and Tissue Preservation for Long Term.

Ordinary method of cell and tissue storage is employed preserving method by freezing at extra low temperature of -196°C and original cell is gotten by rapid thawing of frozen cell as needs arises. However, the survival ratios of cells after thawing and fusion is low, depending on a kind of cells and examiner's skill, while those of normal and useful cells such as Langerhans islets and liver cells except cancer cell is about 10 to 30%. We are investigating a novel preservation method, which can control the proliferation of various types of cells, and the long-term preservation of various tissue or organs at the physiological temperature using polyphenol as a preservation agent.

11. Mechanical Analysis of the isometric Contraction of the Skeletal Muscles for an Artificial Heart Support. (Construction of Dynamic Model of the Muscle)

Our development of a new device called "skeletal muscle pump" which uses the Latissimus Dorsi muscle for artificial heart drive system using the skeletal muscle contraction has been investigated. A balloon is inserted between the muscle and pleura, and an electric stimulation is given in the muscle to contract, and the shrinkage force is effectively utilized as driving force of the artificial heart. (Joint Research with Department of Cardiovascular Surgery, Kyoto University)

12. Morphometry System and Operation Simulation (Therapeutic Planning Support System for Jaw Deformities)

In the jaw deformation disease operation, patients and surgeons would like to confirm quantitative evaluation of operative method and improvement of postoperative occlusal function and feature (informed consent). The system for the therapeutic planning support which uses the three-dimensional images abundantly has been developed. (Joint Research with Department of the Oral Surgery, Kyoto Univ.)

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

Peng, C., Tsutsumi, S., Matsumura, K., Nakajima, N., Hyon, S.-H. : Morphologic study and syntheses of type I collagen and fibronectin of human periodontal ligament cells cultured on poly(ethylene-co-vinyl alcohol) (EVA) with collagen immobilization, *J. Biomed. Mater. Res.* **54** : 241-246 (2001).

Yoshida, H., Tsutsumi, S. : Experimental analysis of a new flexible neck model for low-speed rear-end collisions, *Accid. Anal. Prev.* **33** : 305-312 (2001).

Yoshida, H., Tsutsumi, S., Mizunuma, M., Yanai, A. : A Surgical Simulation System of Skin Sutures Using a Three-Dimensional Finite Element Method, *Clinical Biomech.* **16** : 621-626, 2001.

Tanaka, M., Miyamoto, N., Tsutsumi, S., Yoshida, H. : Developing a Passenger Seat to Reduce Whiplash Injuries, Society of Automotive Engineers Progress in Safety Test Methodology, SP-1596 : 79-86 (2001).

Kuwahara, H., Al-Abdullat, Y., Mazaki, N., Tsutsumi, S., Aizawa, T. : Precipitation of Magnesium Apatite on Pure

- Magnesium Surface During Immersing in Hank's Solution, *Mater. Transact., JIM*. **42** : 1317-1321(2001).
- 堤定美, 玄丞然, 彭春岩, 中島直喜, 松村和明: 歯根膜を有する人工歯根の開発に向けて, **大阪府病院診療所歯科部長会会誌**, **33** : 29-35 (2001).
- 黒川正人, 堤定美, 太田信: 胸部の再建に対する非接触型3次元レーザー形状計測装置の有用性, **光計測シンポジウム2001論文集** : 90-93 (2001).
- 黒川正人, 山田信幸, 夫 一龍, 堤 定美: 漏斗胸に対する胸骨挙上術の術前・術後の胸部CTおよび非接触3次元レーザー形状計測装置による検討, **日本形成外科学会会誌**, **21** : 344-348 (2001).
- Kurokawa, M., Yamada, N., Fu, I., Tsutsumi, S.: Reconstruction of Breast Using a Laser Lithographic Model, *Breast Cancer* **8** : 162-165(2001).
- 内藤貴美子, 堤定美, 若月英三: 3次元シミュレーションを用いた偏側咬合による脊椎の変化に関する研究, **昭和歯学会雑誌**, **21** : 242-248 (2001).
- Ohta, M., Tsutsumi, S., Hyon, S-H., Kang, Y-B., Tanabe, H., Miyoshi, Y.: Residual Stress Measurements of Ultra-High Molecular Weight Polyethylene for Artificial Joints, *Russ. J. Biomech.*, **5** : 30-38(2001).
- Ohta, M., Hyon, S-H., Kang, Y-B., Murakami, S., Kohjiya S., Oka, M., Tsutsumi, S.: Effect of the Compression Ratio on Wear Properties of Slightly Cross-linked Ultra-High Molecular Weight Polyethylene, Crystallized under Uniaxial Compression, *Wear*, **250** : 145-151(2001).
- 大城 理, 菅 幹生, 太田 信, 松田哲也, 堤 定美, 湊 小太郎, 千原國宏, 高橋 隆: MREを用いた剛性率と粘性率の計測, *Med. Imag. Technol.* **19** : 389-399 (2001).
- Al-Abdullat, Y., Tsutsumi, S., Nakajima, N., Ohta, M., Kuwahara, H., Ikeuchi, K.: Surface Modification of Magnesium by NaHCO₃ and Corrosion Behavior in Hank's Solution for New Biomaterial Applications, *Mater. Transact.*, **42** : 1777-1780 (2001).
- 高木順平, 岡 正典, 堤 定美, 吉田宏昭, 福田秀章, 中村孝志, 藤田 裕, 牛尾一康: Bioactive 骨セメント使用における Stress Shielding の研究(第2報), **日本臨床バイオメカニクス学会誌**, **22** : 73-77 (2001).
- 中井隆介, 吉田宏昭, 東 高志, 堤 定美, 久津木学, 菊本力也, 伊藤 仁, 林 浩二, 井上博志: 咀嚼力による顎顔面骨の力学的適応変化に関するシミュレーション, **日本臨床バイオメカニクス学会誌**, **22** : 369-373 (2001).
- 久津木学, 山口芳功, 吉武一貞, 中井隆介, 東 高志, 吉田宏昭, 堤 定美, 菊本力也, 伊藤 仁, 林 浩二, 井上博志: 顎顔面形態の対称性に関する3次元リモデリングシミュレーション, **日本臨床バイオメカニクス学会誌**, **22** : 369-373 (2001).
- Matsumura, K., Hyon, S-H., Nakajima, N., Peng, C., Tsutsumi, S.: Adhesion between Poly (ethylene-co-vinyl alcohol) (EVA) and titanium, *J Biomed. Mater. Res.* **60** : (2001).
- Hyon, S.-H. and Kim, O.-J : The Rat Pancreatic Islets Hibernate under Physiological Conditions, *J. Biotechnol.*, **85** : 241-246(2001).
- Hyon, S.-H. and Kim, O.-J : Hibernation of Mammalian Cells at the Living Body Temperature” *Biotechnol.Bioproc.Eng.*, **6** : 289-292(2001).
- Yura, S., Oka, M., Hyon, S.-H., Cui, S.C., Hayami, T., Nakamura, T., Ushio, K.: Development of an artificial intervertebral disc., *J. Appl. Biomater.* (in Press)
- 武田 聡, 坂口一彦, 西浦 淳, 岡 正典, 速水 尚, 玄 丞然, 金 度勳, 戸口田淳也, 牛尾一康: ポリフェノ

ールによる関節軟骨保存の研究, 日本臨床バイオメカニクス学会誌 22: 11-15 (2001).

谷山和宏, 坂口一彦, 岡 正典, 玄 丞然, 由良茂人, 速水 尚, 中村孝志: 犬用人工椎間板の力学的特性評価 (第3報), 日本臨床バイオメカニクス学会誌 22: 109-115 (2001).

久田祥博, 速水 尚, 児島忠倫, 岡 正典, 玄 丞然, 由良茂人: 人工椎間板の疲労強度特性 (第2報), 日本臨床バイオメカニクス学会誌 22: 117-121 (2001).

渡辺雄祐, 坂口一彦, 岡 正典, 玄 丞然, 池内 健, 速水 尚, 中村孝志, 牛尾一康: 射出成形法による PVA-H の摩擦・摩耗特性, 日本臨床バイオメカニクス学会誌 22: 123-128 (2001)

西浦 淳, 坂口一彦, 岡 正典, 速水 尚, 玄 丞然, 松村和明, 牛尾一康, 中村孝志: 射出成形法による PVA-H の力学的特性に関する研究, 日本臨床バイオメカニクス学会誌 22: 129-134 (2001)

牛尾一康, 中村孝志, 岡 正典, 玄 丞然, 速水 尚, 由良茂人: 犬大腿骨頭部分的表面置換術に於ける Stress Shielding, 日本臨床バイオメカニクス学会誌 22: 261-264 (2001).

3) 総 説

堤 定美, 住吉周平, 下田恒久, 本田武司: Science ヒトはどこまでデザインできるか -- シミュレーションモデル歯科医工学の世界 第1回 骨の力学的適応変形のシミュレーション -- 特に顎骨延長術とバイオメカニクスについて, 歯科技工, 29: 13-15 (2001).

堤 定美, 吉田宏昭: Science ヒトはどこまでデザインできるか -- シミュレーションモデル歯科医工学の世界 第2回 「咬合と脊椎症」および「姿勢と腰痛」のシミュレーション, 歯科技工, 29: 182-184 (2001).

堤 定美, 中井隆介: Science ヒトはどこまでデザインできるか -- シミュレーションモデル歯科医工学の世界 第3回 未来人の顔の予測, 歯科技工, 29: 318-320 (2001).

堤 定美, 吉田宏昭: Science ヒトはどこまでデザインできるか -- シミュレーションモデル歯科医工学の世界 第4回 マウスガードと衝撃吸収効果, 歯科技工, 29: 458-460 (2001).

堤 定美, 彭 春岩, 松村和明, 中島直喜, 玄 丞然: Science ヒトはどこまでデザインできるか -- シミュレーションモデル歯科医工学の世界 第5回 歯根膜付きインプラントの可能性, 歯科技工, 29: 594-596 (2001).

堤 定美, 太田 信: Science ヒトはどこまでデザインできるか -- シミュレーションモデル歯科医工学の世界 第6回 三次元形状(立体)認識システム -- ワックス形成・窩洞形成の成績評価 -- , 歯科技工, 29: 738-740 (2001).

堤 定美, 東 高志: Science ヒトはどこまでデザインできるか -- シミュレーションモデル歯科医工学の世界 第7回 シミュレーション医工学としての最新 MRI (核磁気共鳴撮像法) -- 軟組織の動き・状態を連続動画で観察 -- , 歯科技工, 29: (2001).

堤 定美, 太田 信: Science ヒトはどこまでデザインできるか -- シミュレーションモデル歯科医工学の世界 第8回 手術シミュレーション -- 人体再建補綴技工のススメ -- 2 治療計画応援システム, 歯科技工, 29: 1044-1046 (2001).

堤 定美, 太田 信: Science ヒトはどこまでデザインできるか -- シミュレーションモデル歯科医工学の世界 第9回 手術シミュレーション -- 人体再建補綴技工のススメ -- 2 人工頭蓋骨の受託製作, 歯科技工, 29: 1140-1142 (2001).

堤 定美, 吉田宏昭: 鞭打ち損傷に関する生体力学的研究, 日本ゴム協会誌, 74: 352-356 (2001).

- 堤 定美, 太田 信: Science ヒトはどこまでデザインできるか -- シミュレーションモデル歯科医工学の世界
第10回 触感をシミュレートする -- 粘弾性の基礎 -- , 歯科技工, 29: 1306-1308 (2001).
- 堤 定美, 吉田宏昭: 実験的および数値的解析を用いた鞭打損傷の発生メカニズムに関する研究, 自動車研究,
23: 542-547 (2001).
- 堤 定美, 南部敏之: Science ヒトはどこまでデザインできるか -- シミュレーションモデル歯科医工学の世界
第11回 人工現実感システムと顎運動ロボット -- 仮想と現実の狭間で -- , 歯科技工, 29: 1436-1438
(2001).
- 堤 定美: Science ヒトはどこまでデザインできるか -- シミュレーションモデル歯科医工学の世界 第12回 シ
ミュレーション技術の進化, 歯科技工, 29: 1548-1551 (2001).
- 玄 丞然: 再生医療のための生体材料, 歯根膜と血管の再生, 増殖コントロール, ザ・クインテッセンス, 20: 3
-14 (2001)
- 岡野仁夫, 太田 信, 堤 定美: 歯科技工士21世紀のミッション -- 多領域に拡大する歯科技工士の守備範囲
PVAを使用したスポーツ用マウスガードの製作, 歯科技工, 29: 1320-1323 (2001).

◆ 学会等の講演 ◆

1) 学会・研究会発表

- Tsutsumi, S., Peng, C., Matsumura, K., Nakajima, N., Hyon. S.-H.: Histological Evaluation of PDL Cells 3D Cultured
on Dental Implants. IADR79th General Session & Exhibition(2001.6.27-30 Chiba)
- Tsutsumi, S., Peng, C., Matsumura, K., Nakajima, N., Hyon. S.-H.: Trial of Regeneration of Periodontal Ligament
Around Dental Implants. 5th World Congress for Oral Implantology(2001.6.30-7.2 Tokyo)
- Matsumura, K., Hyon, S.-H., Nakajima, N., Peng, C., Iwata, H., Tsutsumi, S.: Regeneration of periodontal Ligament
around titanium implants222nd ACS National Meeting (2001.8.26-30 Chicago)
- 松村和明, 玄 丞然, 中島直喜, 彭 春岩, 堤 定美: 歯根膜を有する人工歯根の開発研究【Ⅳ】イヌ顎骨内埋植3
ヶ月後の組織観察. 第38回日本歯科理工学会学術講演会 (2001.10.19-20 福岡)
- 中尾浩之, 松本卓也, 高橋純造, 玄 丞然: 多孔質乳酸 ε カプロラクトン共重合体の諸性質(その2) ポア
サイズ制御と分解性について. 第37回日本歯科理工学会学術講演会 (2001.3.31-4.1 東京)
- 中尾浩之, 松本卓也, 高橋純造, 玄 丞然: 骨再生用多孔質乳酸 ε カプロラクトン共重合体の諸性質(その3)
発砲体の分解性に及ぼす共重合比の影響. 第38回日本歯科理工学会学術講演会 (2001.10.19-20 福岡)
- 伊藤 啓, 石河正久, 原田敏明, 金 度勲, 玄 丞然: 絹不織布の生体適合性と体内吸収性. 繊維学会 (2001.6.6
-8 浜松)
- 岡本 健, 柿木良介, 玄 丞然, 中村孝志: ポリフェノールによる末梢神経保存の実験的研究. 第4回日本組織工
学会 (2001.7.6-7 川崎)
- 玄 丞然, 金 度勲, 井上一知, 堤 定美: ラット腹腔大動脈の長期間保存と移植. 第8回日本臓器保存生物医学
会 (2001.7.24 名古屋)
- 速水 尚, 岡 正典, 玄 丞然, 中村孝志, 谷山和宏: PVA-hydrogel 型人工椎間板のせん断および曲げ疲労強度.
第23回日本バイオマテリアル学会大会 (2001.10.22-23 京都)
- 速水 尚, 岡 正典, 玄 丞然, 中村孝志, 松村和明, 西浦 淳: 射出成形した PVA-hydrogel のクリープ特性.

第23回日本バイオマテリアル学会大会 (2001.10.22-23 京都)

金 奉哲, 玄 丞然, 岩田博夫, 堤 定美: PLLA と HAp 複合体の静水圧押し出し成形. 第23回日本バイオマテリアル学会大会 (2001.10.22-23, 京都)

今村敏之, 澤井大輔, 金元哲夫, 玄 丞然: ポリ L-乳酸 (PLLA) の一軸延伸. 繊維学会 (2001.6.6-8 浜松)
西谷佳浩, 山田登美子, 糸田俊之, 清水洋利, 玄 丞然, 堤 定美, 吉山昌宏: コラーゲン固定化エチレン・ビニルアルコール共重合体(EVA)へのヒト歯髄由来細胞培養. 第115回日本歯科保存学2001年秋季学会(2001.11.9-10 福岡)

西浦 淳, 岡 正典, 堤 定美, 玄 丞然, 松村和明, 中村孝志, 坂口一彦: 射出成形機を用いて作製した PVA-H の生体内安定性評価. 第28回日本臨床バイオメカニクス学会 (2001.11.16-17 大阪)

谷山和宏, 岡 正典, 由良茂人, 堤 定美, 玄 丞然, 速水 尚, 中村孝志: イヌ用人工椎間板の粘弾性特性評価. 第28回日本臨床バイオメカニクス学会 (2001.11.16-17 大阪)

2) 講演・シンポジウム

Hyon, S.-H.: Proliferation Control of Mammalian cells and Tissue Preservation for long term (Invited Lecture). Sigma-Aldrich(2001.4.24 Saint Paul, USA)

玄 丞然: 21世紀の人工臓器と再生医療 (招待講演). 医用高分子講座 (2001.2.8 東京)

玄 丞然: 医療用接着剤の最前線 (招待講演). 近化セミナー (2001.2.9 大阪)

玄 丞然: 歯根膜を有する人工歯根 (招待講演). 日本口腔インプラント学会第18回九州支部学術大会 (2001.3.4 鹿児島)

玄 丞然: 配向結晶化 UHMWPE の耐摩耗性 (招待講演). 第29回人工関節の機能高度化研究会 (2001.3.17 岡山)

玄 丞然: 高強度・高弾性率分解吸収性骨固定材 (招待講演). 第30回人工関節の機能高度化研究会 (2001.5.19 岡山)

玄 丞然: 生体内分解吸収性の生体材料 (招待講演). 第12回関西 Bio Polymer 研究会 (2001.5.22 京都)

玄 丞然: ポリフェノールを用いた移植用生体組織バンク (招待講演). ベンチャープラザ京都01 (2001.11.28 京都)

生体組織工学研究部門

生体分子設計学分野

Department of Molecular Interaction and Tissue Engineering

【研究概要】

本研究分野では、軟骨・骨形成とその再生修復、組織血管化の分子機構の解明を主たるテーマとして、細胞レベルや分子レベルでの解析を行っている。現在の研究テーマは、以下の通りである。

1. 軟骨分化制御の分子機構に関する研究

マウス EC 由来 ATDC5 により *in vitro* 軟骨多段階分化モデルを構築し、軟骨分化を解析するスタンダードな系として国際的に用いられている。これを使って、1) 幹細胞の高い自己複製能が FGF シグナルに支配されていること、2) 前駆軟骨細胞の分化進展が BMP-2 / 4 と PTH/PTHrP シグナルによる正負の制御を行っていることを明らかにした。さらに、軟骨幹細胞から組織形成に至る制御機構の全容解明に発展している。

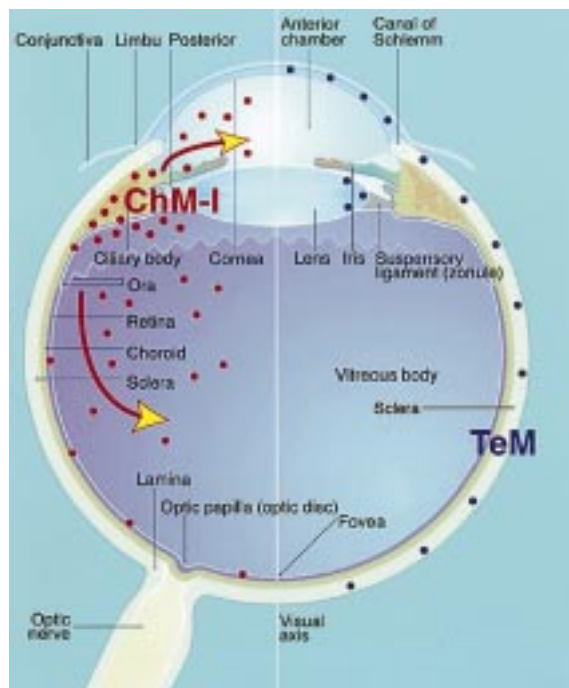
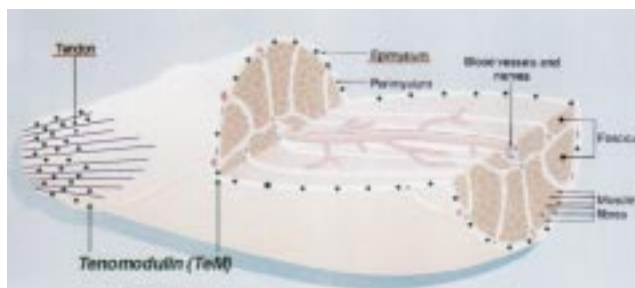
2. 関節軟骨再生の分子制御機構

上記の成果を *in vivo* における関節軟骨全層欠損の再生修復誘導に応用した。その結果、欠損部内への FGF シグナルが骨髄由来の軟骨幹細胞の選択的遊走と自己複製に働いて、軟骨再生を誘導することを明らかにした。さらに、PTH シグナルが前駆軟骨細胞の分化を負に制御していることを示した。PTH 受容体の発現解析から前駆軟骨細胞マーカーとしての役割を明らかにしている。臨床応用を目指した再生技術の開発を準備している。

3. 組織特異的の血管侵入障壁を構成する血管新生抑制因子の研究

軟骨は間葉系組織のうちでは例外的に無血管な組織で、周囲からの血管侵入に強い抵抗性を示す。胎生期に形成された軟骨は、骨原基として機能している。ウシ胎仔軟骨から血管新生阻害因子 Chondromodulin-I (ChM-I) を発見し、骨格形成における役割を解析している。ChM-I 遺伝子の発現は、軟骨形成に先立つ初期発生段階にも特徴的なパターンを示した。

さらに現在想定している ChM-I 機能ドメイン



ChM-I 関連遺伝子としてクローニングされた Tenomodulin (TeM) は、筋外膜 (Epimysium) や腱 (Tendon) などの血管網の少ない組織に発現していることが判明した。(下図) 眼は高度に発達した血管侵入抵抗性障壁をもつと考えられる。ChM-I と TeM の発現部位は、ほぼ相補的な分布をしており、眼組織の血管侵入抵抗性が分布する領域に重なることが明らかになった。

に高い相同性領域をもつ新たな遺伝子クローニングし、これを Tenomodulin (TeM) と命名した。TeM は ChM-I と全く異なる発現パターンを示し、毛細血管網に乏しいことが知られている腱や靱帯のような強靱結合組織に特異的であった。軟骨と並んで血管侵入抵抗性組織の代表は、眼である。ChM-I と TeM の発現領域を重ね合わせると、従来から知られている眼の無血管領域にオーバーラップすることが判明した。

(文責 関)

The proper growth and differentiation signaling from the surrounding extracellular environment regulates tissue formation and its functions. We are aiming at the elucidation of molecular interactions and signaling networks underlying bone and cartilage formation and vascularization.

1. Regulatory mechanism of chondrogenic differentiation.

We previously established the in vitro model of multistep chondrogenic differentiation using mouse EC cell line, ATDC5, which is currently used as one of the standard cell lines. Based on the analysis of this model, we proposed that the following signals are critical for chondrogenesis: 1) FGF signal participates in the rapid self-renewal of progenitors; 2) the balance of BMP-2/4 and PTH/PTHrP signals does in the progressive differentiation.

2. Regeneration of full-thickness defects of articular cartilage.

We applied the above model for the regulation of reparative responses in full-thickness defects of articular cartilage, and demonstrated that the supply of FGF signal determined the capacity of self-renewal of chondroprogenitors. Supplementation of FGF induced cartilage repair in the defect cavities. In contrast, PTH/PTHrP signal inhibited the progression of cartilage differentiation. Regulation of inductive chondrogenesis in vivo is extensively studied for the future therapeutic applications.

3. Angiogenesis inhibitors involved in tissue-specific anti-angiogenic barriers.

Cartilage is exceptionally anti-angiogenic among mesenchymal tissues. We identified an angiogenesis inhibitor in cartilage, and termed it chondromodulin-I (ChM-I). We demonstrated that ChM-I participated in angiogenic switching of cartilage phenotype during bone formation. Furthermore, we showed that ChM-I was specifically expressed in early mouse development. Recently, we cloned a new gene having an anti-angiogenic domain homologous to that of ChM-I. We named it tenomodulin (TeM), since the gene was expressed in a tissue specific manner in dense connective tissue such as tendon and ligament. Eye is also known as a typical anti-angiogenic organ. We demonstrated that transcripts for ChM-I and TeM genes were co-localized with avascular regions in eye.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

Shukunami, C., Oshima, Y., Hiraki, Y.: Molecular cloning of tenomodulin, a novel chondromodulin-I related gene. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **280**: 1323-1327 (2001).

Shimizu, A., Tada, K., Shukunami, C., Hiraki, Y., Kurokawa, T., Magane, N., Seo, M.: A novel alternative spliced FGFR3 isoform lacking the acid box domain is expressed during chondrogenic differentiation of ATDC5 cells. *J. Biol. Chem.*, **276**: 11031-11040 (2001).

- Funaki, H., Sawaguchi, S., Yaoeda, K., Koyama, Y., Yaoita, E., Funaki, S., Shirakashi, M., Shukunami, C., Hiraki, Y., Abe, H., Yamamoto, T. : Expression and localization of angiogenic inhibitory factor, chondromodulin-I, in adult rat eye. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **42** : 1193-1200 (2001).
- Kusafuka, K., Hiraki, Y., Shukunami, C., Yamaguchi, A., Kayano, T., Takemura, T. : Cartilage-specific matrix protein chondromodulin-I (ChM-I) is associated with chondroid formation in salivary pleomorphic adenomas : an immunohistochemical analysis. *Am. J. Pathol.*, **158** : 1465-1472 (2001).
- Sachdev, S. W., Dietz, U. H., Oshima, Y., Lang, M. R., Knapik, E. W., Hiraki, Y., Shukunami C. : Sequence analysis of zebrafish chondromodulin-I and expression profile in the notochord and chondrogenic regions of developing cartilage. *Mech. Dev.*, **105** : 157-162 (2001).

2) 著書および総説

- Hiraki, Y., Shukunami, C., Iyama, K., Mizuta, H. : Differentiation of chondrogenic precursor cells during the regeneration of articular cartilage. *Osteoarthritis Cartilage*, **9** (Supplement A) : S102-S108 (2001).
- 開 祐司 ; 再生医学の現状と可能性 . 臨床雑誌 外科 , **63** : 259-265 (2001) .
- 開 祐司 ; 1 2 3 軟骨 . 「カルシウムと骨」(西井易穂他, 森井浩世, 江澤郁子, 小島至, 編集), 朝倉書店(東京) pp .63-70 (2001) .
- 開 祐司, 水田博志, 宿南知佐, 猪山賢一 : 間葉系幹細胞システムの活性化と軟骨再生の制御 . 「発生・再生と医学 -- 阿蘇シンポジウム2000 -- 」(丸山征郎, 山村研一, 柳雄介, 編) pp .79-87 (2001) .
- 開 祐司, 宿南知佐, 渥美忠男 : 軟骨への分化 . 実験医学別冊 ポストゲノム時代の実験講座⁽⁴⁾ 幹細胞・クローン研究プロトコル , pp .153-160 (2001) .
- Shukunami, C., Hiraki, Y. : Role of cartilage-derived anti-angiogenic factor, chondromodulin-I, during endochondral bone formation. *Osteoarthritis Cartilage*, **9** (Supplement A) : S91-S101, (2001).
- 宿南知佐, 開 祐司 : 間葉系幹細胞の活性化と組織再生 . *細胞* , **33** : 84-87 (2001) .
- 宿南知佐, 開 祐司 : RA の再生医学 -- 軟骨について . *CLINICIAN* , **48** : 359-363 (2001) .
- 宿南知佐, 柴田洋之, 開 祐司 : 軟骨・骨形成と血管侵入 . *実験医学* , **19** : 841-84 (2001) .
- 宿南知佐, 開 祐司 : 軟骨形成と血管新生の制御 , *最新医学* , **56** : 1809-1816 (2001) .
- 水田博志, 開 祐司 : 増殖分化因子による軟骨組織修復 . *リウマチ科* , **25** : 533-542 (2001) .

◆ 学会等の講演 ◆

1) 学会・研究会発表

- Kudo, S., Mizuta H., Takagi K., Hiraki Y. : Regeneration of articular cartilage defects is induced by transient PTH treatment started immediately after creating the defects. 47th Annual Meeting of Orthopaedic Research Society (2001.2.25-28.2001 San Francisco)
- 草深公秀, 武村民子, 開 祐司, 宿南知佐, 山口朗, 茅野照雄 : 軟骨は何故無血管組織なのか? -- ChM-I は血管新生を強力に抑制する . 日本病理学会 (2001 4 5- 7 東京)
- 草深公秀, 開 祐司, 宿南知佐, 山口 朗, 茅野照雄, 武村民子 : 多形性腺腫における軟骨様成分の無血管性に chondromodulin-I (ChM-I) は関与しているか? 第43回歯科基礎医学会学術大会(2001 9 .19-21 大宮)

宿南知佐, 大島佑介, 開 祐司: Tenomodulin (TeM) の分子クローニングと発現局在. 第46回マトリックス研究会大会 (2001 4.16-17 富山)

Shukunami, C., Oshima, Y., Maeda, M., Hamajima, K., Shibata, H., Kokubu, C., Imai, K., Hiraki, Y.: Cloning of tenomodulin, a novel chondromodulin-I related gene. 第34回日本発生生物学会大会 / 14th International Congress of Developmental Biology (2001 7 8-12 京都)

柴田洋之, 大島佑介, 近藤淳, 宿南知佐, 開 祐司: 組換え chondromodulin-I の機能性ドメイン解析. 第46回マトリックス研究会大会 (2001 4.16-17 富山)

Shibata, H., Oshima, Y., Shukunami, C., Hiraki, Y.: Molecular analysis of domain structures in cartilage-derived angiogenesis inhibitor, chondromodulin-I. 第34回日本発生生物学会大会 / 14th International Congress of Developmental Biology (2001 7 8-12 京都)

船木治子, 八百枝潔, 船木繁雄, 白柏基宏, 阿部春樹, 山本 格, 開 祐司: 新しい血管新生抑制因子であるコンドロモジュリン-I のラット眼内における発現. 日本眼科学会総会 (2001 4.19-21 横浜)

Oshima, Y., Shibata, H., Hamajima, K., Hiraki, Y., Shukunami, C.: Expression pattern of tenomodulin, a novel chondromodulin-I related gene, during mouse development. 第34回日本発生生物学会大会, 14th International Congress of Developmental Biology (2001 7 8-12 京都)

大島 佑介, 山名 慶, 和田 仁, 開 祐司, 宿南 知佐: 腱・靱帯特異的に発現する Tenomodulin の血管新生抑制作用. 第24回日本分子生物学会年会 (2001.12 9-12 横浜)

清水昭男, 多田孝一郎, 宿南知佐, 開 祐司, 黒川 勉, 真金典子, 瀬尾美鈴: 選択的スプライシングにより生じるアシッドボックス欠損型と完全型 FGFR 3 アイソフォームの FGF 応答性の相違. 第74回日本生化学会大会 (2001.10 25-28 京都)

嶋田知訓, 坂東美和, 開 祐司, 宿南知佐, 辻明彦, 松田佳子: ATDC 5 細胞の軟骨分化過程における SPC ファミリーの動態. 第74回日本生化学会大会 (2001.10 25-28 京都)

Setoguchi, K., Misaki, Y., Kawahara, K., Shimada, K., Shukunami, C., Hiraki, Y., Yamamoto, K.: Chondromodulin, a joint-cartilage derived angiogenesis inhibitor, reduces the incidence of the experimental arthritis via modulating T cell response. ACR (American College of Rheumatology) 65th Annual Scientific Meeting (2001.11.10-15 San Francisco)

瀬戸口京吾, 三崎義堅, 川畑仁人, 島田浩太, 宿南知佐, 開 祐司, 山本一彦: 骨端軟骨由来因子コンドロモジュリン-I (Chondromodulin-I) の T 細胞機能抑制を介した関節炎改善. 第31回日本免疫学会総会・学術集会 (2001.12.11-13 大阪)

2) 講演・シンポジウム

開 祐司: Chondromodulin-I の作用からみた血管侵入抵抗性の分子基盤. 第1回分子血管研究会特別講演 (2001.1.13-14 千葉)

開 祐司: 軟骨細胞の細胞生物学. 厚生省厚生科学研究公開シンポジウム -- リウマチ性疾患治療戦略の確立にむけて -- (2001.1.29-30 東京)

開 祐司: 腫瘍血管新生とその制御を考える. 第90回核医学症例検討会 特別講演 II (2001 2.10 大阪)

開 祐司: Physiological role of anti-angiogenic barriers. 新潟大学歯学部特別講義 (2001 3 9 新潟)

開 祐司: 血管侵入抵抗性障壁 -- 鏡の背面 -- . 第2回 Angiogenesis Club 特別講演 (2001 3.10 仙台)

- 開 祐司：Anti-angiogenic Barriers -- The Other Side of Angiogenesis -- . 明海大学歯学部ハイテクリサーチ研究
発表会 (2001 3.17 坂戸)
- 開 祐司：間葉系幹細胞システムの活性化と軟骨・骨再生の制御．科学技術振興調整費『臓器再生』公開シンポジ
ウム「再生を科学する」(2001 3.21 東京)
- 開 祐司：Stem cell biology and tissue regeneration . 第101回日本外科学会総会 Special Symposium Keynote Lecture
(2001 4.11 仙台)
- 開 祐司，宿南知佐：Anti-angiogenic barriers in connective tissue . 第2回 Aging Science Forum (2001 4.14 横
浜)
- 開 祐司：Anti-angiogenic Barriers-The Other Side of Angiogenesis-呉羽化学工業 生物医学研究所セミナー
(2001 6.7 東京)
- 開 祐司：分化因子による骨・軟骨の再生．第22回日本老年学会総会 / 第43回日本老年医学会学術集会老年医学会
Aging Science Forum (2001 6.15 大阪)
- 開 祐司：軟骨形成と血管新生の制御．科学研究費「がん生物」・「先端がん」領域合同シンポジウム (2001 7.3-
4 東京)
- 開 祐司：関節器官の再生医学を考える．第14回日本顎関節学学会総会・学術大会 特別講演 1 (2001 7.26-27
神戸)
- 開 祐司：間葉系幹細胞システムの活性化と軟骨再生．シンポジウム「再生医科学 in Gifu」(2001 9.13 岐阜)
- 開 祐司：骨髄間葉系幹細胞システムの活性化と軟骨再生．第43回歯科基礎医学会学術大会 シンポジウム3『幹
細胞と再生医学』(2001 9.19-21 大宮)
- 開 祐司，宿南知佐：ChM-I と TeM から見た血管侵入抵抗性の分子基盤．第74回日本生化学会大会 シンポジウ
ム31「日本発血管障害分子の作用とその展望」(2001.10.25-28 京都)
- 開 祐司：間葉系幹細胞システムの活性化と組織再生．第15回小児成長障害研究会 教育講演(2001.11.3 福岡)
- 開 祐司：内因性血管新生抑制因子としてのコンドロモジュリン-I．第120回日本医学会シンポジウム「血管新生
の基礎と臨床」(2001.12.13 東京)
- Shukunami, C.: Actions of Chondromodulin-I and Tenomodulin: Molecular Basis of Anti-Angiogenic Barriers in
Mesenchymal Structures. The 4th Vascular Biology Conference (2001 7.28-29 淡路島)
- 宿南知佐：間葉系組織における血管侵入障壁の分子基盤．京都大学再生医科学研究所学術講演会「21世紀における
再生医学への展望」(2001 3.21 京都)

生体材料学分野

Department of Biomaterials

【研究概要】

本研究分野の目的は、医療に应用可能な方法、手段、および技術を材料科学の立場に立って研究開発していくことである。そのために必要なものが、生体材料である。生体材料とは、体の中で使用したり、あるいはタンパク質、

細胞などの生体成分と直接に接触する状況で用いられる材料のことであり、本研究分野においては、高分子を主体とした生体材料のデザインと創製を行い、それらの材料の医療への応用を目指している。具体的には、再建外科治療のアシスト用生体材料あるいは薬物治療の効率の向上を目指したドラッグデリバリーシステム(DDS)のための生体材料についての研究開発を行っている。しかしながら、外科アシスト材料の生体適合性はまだまだ低く、代行できる機能も単一であることから、患者に高い Quality of Life (QOL) を与えることが困難である場合が多い。このような状況の中で生まれてきたのが、細胞を利用して生体の治癒力を高め、生体組織を再生しようという再生医学である。再生医学は免疫抑制剤を使わない点で臓器移植とは異なり、移植臓器不足の問題もない。再生医学には細胞、細胞の増殖・分化のための足場、および細胞増殖因子が必要であるが、これらの3つの要素をうまく利用していくために生体材料は必要不可欠である。特に、再生医学では、生体内で分解吸収され消失する材料(生体吸収性材料)が重要である。金属、セラミックスにこの生体吸収性をもたせることは難しく、この観点から高分子材料が主として利用されている。生体吸収性材料の利点は、材料の生体内での役割が果たされた後にその場から消失するため、再び取り出す必要がなく、また、材料の存在が生体組織・臓器の再生を妨げないことである。DDS にも材料の生体吸収性が要求される場合が多い。

本研究分野では、生体吸収性の高分子材料を中心とした再生医学のための生体材料、薬物、遺伝子治療、予防、診断、などに必要な DDS のための生体材料、あるいは外科および内科治療補助のための生体材料(生体適合性材料)の研究を行っている。以下にその内容をより詳しく述べる。

1) 再生医学のための生体材料

血液細胞以外のほとんどの細胞は、生体内では細胞外マトリックスと呼ばれる増殖・分化のための足場材料に接着して存在している。生体組織が大きく欠損した場合には、この足場も失われるため、欠損部に細胞のみを補ってやっても組織の再生は望めない。そこで、細胞の増殖・分化のための仮の足場を供給する必要がある。生体材料の役割はこの細胞の足場であり、本研究分野では、3次元あるいは多孔質構造をもつ生体吸収性の成形体(人工細胞外マトリックス)をデザイン、創製している。しかしながら、いかに足場が優れていても、細胞の数が少なかったり、細胞を増殖させる生体シグナルが足りなければ、生体組織の再生は望めないであろう。このような場合、細胞の増殖・分化を促す細胞増殖因子を用いるのが1つの現実的な解決法である。しかしながら、これらの因子はタンパク質であり、生体内での寿命が短く不安定であるため、その利用には工夫が必要である。たとえば、生体吸収性材料に細胞増殖因子あるいはその関連遺伝子を包含させ、再生部位で徐放化すれば、これによって組織の再生は促進される。本研究分野では、この徐放化担体のための生体材料をデザイン、創製している。再生医学の基本となるのは細胞であり、幹、前駆、および芽細胞などの単離、あるいはそれらの増殖・分化などに関する技術が必要となることはいうまでもない。これらの細胞の培養操作にも種々の材料の寄与は不可欠であり、本研究分野では、細胞の利用のための生体材料の研究も行っている。

2) DDS のための生体材料

薬物が効くのは、薬物がその作用部位に適切に作用するからである。しかしながら、現実には、薬物は部位選択性がなく、その薬理作用を発現させるために大量投与が行われている。これが薬物の副作用を助長している主な原因である。そこで、薬物を必要な部位へ、必要な濃度で、必要な時期にだけ働かせるための試みが行われている。これが DDS であり、その目的は薬物の徐放化、薬物の長寿命化、薬物の吸収促進、および薬物のターゲティングなどである。いずれの目的にも、薬物を修飾するための生体材料が必要である。本研究分野では、生体材料学の観点からの薬物、遺伝子治療のための DDS 研究を行っている。加えて、全身あるいは局所、粘膜ワクチン、核磁気共鳴イメージング(MRI)、超音波診断などに対しても、その効果を高めるためには DDS 的工夫が

不可欠であり、予防および診断医学に対する DDS の研究開発も行っている。

3) 生体適合性生体材料

本研究分野は、高分子材料を医療に応用していくという、本研究所の前身である生体医療工学研究センターの材料科学研究の流れを引いている。その中で、生体内で吸収する性質をもつ高分子材料を中心として、外科・内科治療の補助のための生体材料の研究開発を行っている。

〔再生の 1 例〕生体吸収性微粒子から徐放された細胞増殖因子によるイヌ心筋梗塞部における心臓冠状動脈の再生



細胞増殖因子の徐放化材料処理群



細胞増殖因子の水溶液処理群

冠状動脈の結紮部位
(青印)の抹消側の
血流が再開している。
(矢印)

材料科学的な観点から、細胞の足場、細胞増殖因子あるいはその関連遺伝子の DDS、および幹（前駆、芽）細胞の利用のための材料に関する研究を行い、得られた研究成果技術を利用することによって、皮膚、骨、心臓冠状動脈、脂肪、軟骨、神経、歯周組織、毛髪、心筋、腎臓などの組織、臓器の再生、あるいは DDS を用いた薬物治療、予防、診断などについて、医学部、歯学部との共同研究を通して、具体的な臨床応用を目指した研究を展開している。（文責 田畑泰彦）

The main objective of our department is to study and develop methods, procedures, and technologies applicable to basic and clinical medicines on the basis of material sciences. The materials to use in the body and to contact biological substances, like proteins and cells, are defined as biomaterials. In our department, various types of biodegradable and non - biodegradable biomaterials of polymers are designed and created aiming at their clinical applications. We investigate biomaterials to assist reconstructive surgery and to apply to drug delivery systems (DDS) for improved therapeutic efficacy. However, it is often difficult for patients to improve their Quality of Life (QOL) by only the reconstructive surgery procedure because the biomaterials used are of poor biocompatibility and functional substitution. Under such circumstance, one therapeutic approach newly emerging is regenerative medicine. The objective is to regenerate injured or lost tissues and to substitute organ functions by making use of cells. The regenerative medicine is quite different from organ transplantation from the viewpoint of no need of immunosuppressive agents. The shortage of organ donor is not problematic for this medical therapy. Generally there are three factors necessary for regenerative medicine, such as cells, the scaffold for cell proliferation and differentiation, and growth factors. For successful regenerative medicine, it is indispensable to efficiently take advantage of various biomaterials for all the factors. Especially, biodegradable biomaterials play an important role in their medical applications. Since it is difficult to simply provide metals and ceramics the biodegradable nature, polymer materials of biodegradability have been used for this purpose. If a biomaterial is degraded to disappear in the body accompanied

with its action accomplishment, it is not necessary to consider retrieval of the material from the body. In addition, it is likely that the material degradation does not physically impair tissue regeneration. There are some cases where biodegradability of biomaterials is required for DDS application.

Our research goal is to design and create biomaterials mainly from polymers which are practically applicable for regenerative medicine, DDS, and medical therapy including reconstructive surgery. More detailed explanations about every project are described.

1) **Biomaterials for regenerative medicine**

It is well recognized that cells are present in the living tissue adhering onto the natural scaffold for cell proliferation and differentiation or morphogenesis, namely extracellular matrix (ECM). When the body tissue is largely lost, the ECM itself will also disappear. In such a case, we cannot always expect the tissue regeneration at the large defect only by supplying cells to the defect. One way necessary for successful tissue regeneration is to provide a temporary scaffold for the proliferation and differentiation of cells to the defect. One of the biomaterial roles is this temporary cell scaffold and we are designing and creating 3 - dimensional and porous constructs of biodegradability which is an artificial ECM. However, even if a superior scaffold is supplied to the tissue defect, the tissue regeneration will not be achieved without sufficient number of cells and their proliferation signals. It is one of the practically possible ways to use growth factors to promote cell proliferation and differentiation. It is, however, necessary for in vivo use of growth factors to contrive their administration form because of the in vivo instability. One possible way is the controlled release of growth factor or its related gene at the site of tissue regeneration over an extended time period by incorporating the factor into an appropriate carrier. This release technology will enable the growth factor to efficiently exert the biological activity, resulting in promoted tissue regeneration. We are designing and preparing the release carrier from biodegradable biomaterials. As is mentioned above, cells are key for regenerative medicine. Undoubtedly, it is of prime importance to improve the procedure and technology for isolation, proliferation, and differentiation of cells. Many types of materials need to artificially manipulate cells. In this department, various biomaterials are being explored to effectively take advantage of stem, precursor, and blast cells for regenerative medicine.

2) **Biomaterials for DDS**

Generally drug does not have any selectivities for the site of action. Therefore, high - dose administration of drugs is necessary to achieve their in vivo therapeutic efficacy, while this often causes the severe adverse effect of drug. DDS is a trial which allows drug to timely act at the right site of action at the necessary concentration. The objective of DDS includes the controlled release of drugs, the prolongation of drug life - time, the acceleration of drug absorption, and the drug targeting. For every purpose, various biomaterials are inevitably required to achieve the DDS objective. DDS researches for drug and gene therapies are conduct from the viewpoint of polymer material science. This DDS technology is also needed for enhanced efficacy of vaccination or magnetic resonance imaging (MRI) and ultrasound diagnosis. We also focus on the DDS research for prophylactic and diagnostic applications.

3) Biomaterials for medical therapy

This department is partly originated from the division of Molecular Design and Biomaterials of the former Research Center for Biomedical Engineering where the medical applications of polymer materials have been investigated extensively. Among the research activities, we continue to design and create biomaterials from biodegradable polymers aiming at their assistance in surgical and physical therapies.

From the viewpoint of biomaterial sciences, we are pursuing comprehensive researches on the scaffold for the cell proliferation and differentiation, the DDS of growth factors, and the material technology to use stem, precursor, and blast cells. Through research collaborations with medical and dental schools, we are planning to apply our research results to concrete clinical trials in terms of the regeneration of tissues or organs, such as the skin, fat, bone, cartilage, nerve, hair, blood vessels, periodontium, myocardium, and kidney as well as the DDS applications for therapeutic, prophylactic, and diagnostic medicines.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

Tabata, Y., Ishii, T., Aoyama, T., Oki, R., Hirano, Y., Ogawa, O., and Tabata, Y.: Sonodynamic effect of polyethylene glycol-conjugated fullerene on tumor, (in press).

Tabata, Y.: Significance of biomaterials and drug delivery systems in tissue engineering, *Connective Tissue*, (in press).

田畑泰彦：再生医学ってなんだ -- 心筋の再生 -- , *Mebio*, **18** : 110-115 (2001) .

田畑泰彦 . 関西電力株式会社発行 緑 , **99** : 20 (2001) .

Yamamoto, M., Ikada, Y., and Y., Tabata.: Controlled release of growth factors based on biodegradation of gelatin hydrogel. *J. Biomater. Sci., Polym. Ed.*, **12** : 77-88. (2001).

Yamamoto, M., Sakakibara, Y., Nishimura, K., Tabata, Y., & Komeda, M.: Improved efficacy in cardiomyocyte transplantation for myocardial infarction therapy through prevascularization induced by controlled release of basic fibroblast growth factor, *5th Asian Symposium on Biomedical Materials*, 469-474 (2001).

Hosseinkhani, H., Aoyama, T., Ogawa, O., and Tabata, Y.: In vitro transfection of plasmid DNA by different-cationized gelatin with or without ultrasound irradiation, *Proc. Japan Acad.*, **77(B)** : 161-166 (2001).

Hosseinkhani, H., Aoyama, T., Ogawa, O., and Tabata, Y.: Targeting of plasmid DNA to the liver through pullulan conjugation based on metal coordination. *Proc. 5th Asian Symposium on Biomedical Materials (ASBM5)*, Cheng, J., and Leng, Y. Eds., Hong Kong, 323-328 (2001).

Ozeki, M., and Tabata, Y.: Controlled release of hepatocyte growth factor from gelatin hydrogels. *Proc. 5th Asian Symposium on Biomedical Materials (ASBM5)*, Cheng, J., and Leng, Y. Eds., Hong Kong, 438-443 (2001).

Ozeki, M., Ishii, T., Hirano, Y., and Tabata, Y.: Controlled release of hepatocyte growth factor from gelatin hydrogel based on hydrogel degradation. *J. Drug Targeting*, **9** : 461-471 (2001).

Ozeki, M., and Tabata, Y.: Promoted growth of murine hair follicles through controlled release of basic fibroblast growth factor. *Tissue Eng.* (in press).

- Ozeki, M., and Tabata, Y., (2001). Promoted growth of murine hair follicles through controlled release of vascular endothelial growth factor. *Biomaterials*. (in press).
- Kimura, Y., Inamoto, T., and Tabata, Y.: Adipose tissue engineering by preadipocytes combined with controlled release of basic fibroblast growth factor. *Proc. 5th Asian Symposium on Bimedical Materials (ASBM5)*, Cheng, J., and Leng, Y. Eds., Hong Kong, 519-524 (2001).
- Kimura, Y., Ozeki, M., Inamoto, T., and Tabata, Y.: Time course of de novo adipogenesis in matrigel by controlled release of basic fibroblast growth factor, *Tissue Eng.*, (in press).
- John, A., Hong, L., Y., Ikada, and Tabata, Y.: A trial to prepare biodegradable collagen-hydroxyapatite composite for bone repairing, *J. Biomater. Sci., Polym. Ed.*, **12**: 689-705 (2001).
- Hong, L., Miyamoto, S., Yamada, K., Hashimoto, N., and Tabata, Y.: Enhanced formation of fibrosis in a rabbit aneurysm by gelatin hydrogel incorporating bFGF, *Neurosurgery*, **49**: 954-961 (2001).
- Nagata, N., YJ, Gu., Hori, H., AN, Balamurugan., Toma, M., Kawakami, Y., Weijing, Wang., Satake, A., Misawa, Y., Baba, T., Miyamoto, M., Nozawa, M., Tabata, Y. & Inoue K.: Evaluation of Insulin Secretion of Isolated Rat Islets Cultured in Extracellular Matrix, *Cell Transplan*, **10**: 447-451 (2001).
- Hosseinkhani, H., Aoyama, T., Ogawa, O., & Tabata, Y.: Ultrasound enhancement of in vitro transfection of plasmid DNA by a cationized gelatin, *J. Drug Targeting* (in press).
- Matsumura, T., Moriyasu, F., Toda, Y., Kishi, K., Chiba, T., & Tabata, Y.: Ultrasound exposure enhances the biological action of interferon in the liver, *J. Drug Targeting* (in press).
- Ueda, H., Hong, L., Yamamoto, M., Shigeno, K., Inoue, M., Toba, T., Yoshitani, M., Nakamura, T., Tabata, Y., Shimizu, Y.: Use of collagen sponge incorporating transforming growth factor- β 1 to promote bone repair in skull defects in rabbits. *Biomaterials*, **23**: 1003-1010 (2001).
- Ueda, H., Nakamura, T., Tabata, Y., and Shimizu, Y.: Repairing of rabbit skull defect by TGF- β 1-incorporated collagen sponges of different thickness. *Proc. 5th Asian Symposium on Bimedical Materials (ASBM5)*, Jack CY Cheng and Y Leng Eds., Hong Kong, 193-197 (2001).
- Y. J, Gu., Tabata, Y., Kawakami, Y., A.N.Balamurugan., Hori, H., Nagata, N., Satake, A., W.X.Cui., RMG, Qi., Misawa, Y., Toma, M., Miyamoto, M., Nozawa, M. & Inoue, K.: Development of a new method to induce angiogenesis at subcutaneous site of streptozotocin-induced diabetic rats for islet transplantation, *Cell Transplant* **10**: 453-457 (2001).
- Wang, W., Gu, Y.J., Hori, H., Nagata, N., Nozawa, Y., Miyamoto, M., Nozawa, M., Tabata, Y. Inoue, K.: Beneficial Effect of Basic Fibroblast Growth Factor (bFGF) on Insulin Secretion from the Microencapsulated Pancreatic Islets. *Cell Transplant*, **10**: 465-471 (2001).
- Suginoshita, Y., Tabata, Y., Moriasu, F., Ikada, Y., & Chiba, T.: Liver targeting of interferon- β with a liver affinity polysaccharide based on metal coordination in mice. *J. Pharm. Exp. Therap.*, **298**: 805-811 (2001).
- Nakase, H., Okazeki, K., Tabata, Y., Uose, S., Ohana, M., Uchida, K., T., Nishi, Debreceni, A., Itoh, T., Kawanami, C., Iwano, M., Ikada, Y. & Chiba, T.: An oral delivery system targeting Immune-regulating cells ameliorates mucosal injury in trinitrobenzene sulfonic acid-Induced colitis, *J. Pharm. Exp. Therap.*, **297**: 1122-1128 (2001).
- Nakase, H., Okazeki, K., Tabata, Y., Uchida, K., Uose, S., Nishi, T., Itoh, T., Kawanami, C. & Chiba, T.: Rectal immunization with antigen-containing microspheres induces stronger Th2 responses than oral immunization:

- A new method of cavvination, *Vaccine*, **20** : 377-384 (2001).
- Iwakura, A., Tabata, Y., Tamura, N., Doi, K., Nishimura, K., Nakamura, T., Shimizu, Y., Fujita, M., & Komeda, M. : Gelatin sheet incorporating basic fibroblast growth factor enhances healing of devascularized sternum in diabetic rats, *Circulation*, **104**, I-325-I-329 (2001).
- Sakakibara, Y., Nishimura, K., Tambara, K., Yamamoto, M., Lu, F., Tabata, Y., Komeda, M. : Prevascularization with gelatin microspheres containing basic fibroblast growth factor enhance the benefits of cardiomyocyte transplamtation, *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* (in press).
- Kawai, K., Suzuki, S., Tabata, Y., Taira, T., Y., Ikada, & Nishimura, Y. : Development of an artificial dermis preparation capable of silver sulfadiazine release, *J. Biomed. Mater. Res.*, **57** : 346-356 (2001).
- Yasukawa, T., Kimura, H., Tabata, Y., Kamizuru, H., Miyamoto, H., Honda, Y. & Ogura, Y. : Interferon combined with dextran facilitates targeting to suppress choroidal neovascularization. *Invest. Ophthalmol Vis. Sci.* (in press).
- Kamizuru, H., Kimura, H., Yasukawa, T., Tabata, Y., Hinda, Y., and Ogura, Y. : Monoclonal anti-body-mediated drug targeting to choroidal neovascularization in the rats, *Invest Ophthalmol Visual Sci.* **42** : 2664-2672 (2001).
- Matsugana, Y., Wakatsuki, Y., Tabata, Y., Kawasaki, H., Usui, T., Yoshida, M., Itoh, T., Habu, S. & Kita, Y. : Oral immunization with size-purified microsphere beads as a vehicle selectively induces systemic tolerance and sensitization. *Vaccine* **19** : 579-588 (2001).
- 佐藤江利子, 笠原啓史, 篠崎芳郎, スペルラート・ボルチヒーナ, 田中越郎, 田畑泰彦, 折井正博, 小出司郎策, 盛 英三. : 生体吸収性徐放化ゲルによる遺伝子導入効率の改善, 呼吸と循環 49 : 285-290 (2001) .**
- Kawaguchi, H., Nakamura, K., Tabata, Y., Ikada, Y., Aoyama, I., Anzai, J., Nakamura, T., Hiayama, Y. & Tamura, M. : Acceleration of fracture healing in non-human primates by fibroblast growth factor2. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **86** : 875-880 (2001).
- Umakoshi, Y., Nakano, T., Kaibara, K. & Tabata, Y. : Deformation of mineral apatite single crystal and crystallographic evaluation of hydroxyapatite crystallites in biological bones, *ASBM*, (in press).
- Nakano, T., Kaibara, K., Umakoshi, Y. & Tabata, Y. : Texture of hydroxyapatite (HAp) crystallites in typical biological hard tissues, *Proc. of PRICM 4*. 225-228 (2001).
- 中野貴由, 海原一裕, 馬越佑吉, 田畑泰彦, 長田奈津紀, 洪 流, 榎本昭二, 丸川恵理子. 再生医学と材料工学との融合, Hap 結晶の配向性を利用した生体硬組織の評価, BOUNDARY ,17(8), 10-13 (2001).**
- Mori, H., Kasahara, H., Sato, E., Hattan, N., Tanaka, E., Ando, K., Shinozaki, Y., Kuwabara, E., Kimura, K., Fukuyama, N., Iseki, H., Ban, K., Ssakamoto, H. & Tabata, Y. : Salvaging ischemic myocardium by tissue engineering, *Tissue Engineering for Therapeutic Use*5.Ikada, Y.and Oshima, N (Eds.), Elsevier Sciences, B.V., Amsterdam, 113-116 (2001).
- Morimoto, K., Tabata, Y., H., Katsumata, Yabuta, T., Iwanaga, K., Kakemi, M. & Ikada, Y. : Evaluation of gelatin microspheres for nasal and intramuscular administrations of salmon calcitonin. *Eur. J. Pharm. Sci.* **13** : 179-185 (2001).
- Wang, J., Tabata, Y., Bi, D. & Morimoto, K. : Evaluation of gastric mucoadhesive properties of aminated gelatin microspheres, *J. Controlled Release*, **73**, 223-231 (2001).
- Mligiliche, N., Tabata, Y., Endo, K. & Ide, C. : Peripheral nerve regeneration through a long detergent-denatured muscle autografts in rabbits, *Regeneration Transplant. NeuroReport*, **12** : 1719-1722 (2001).

Yeung, HY., Law, LP., Lee, KM, Cheng, JCY., Chow, P. & Tabata, Y. : The effect of vascular endothelial growth factor combined with hydrogel in a posterior spinal fusion model. *Proc. 5th Asian Symposium on Bimedical Materials (ASBM5)*, Cheng, J., and Leng, Y. Eds., Hong Kong, 292-297 (2001).

Yeung, HY., Cheng, WH., Law, LP., Cheng, JCY., Lee, KM. & Tabata, Y. : Culture of rabbit chondrocytes released from rib cage on calcium ceramics and collagen sponge. *Proc. 5th Asian Symposium on Bimedical Materials (ASBM 5)*, Cheng, J., and Leng, Y. Eds., Hong Kong, 338-342 (2001).

2) 著 書

Tabata, Y., and Ikada Y. Significance of drug delivery in tissue engineering, *Tissue Engineering and Biodegradable Equevalents : Scientific and Clinical Applications*, D.L. Wise Ed., Marcel Dekker, Inc, New York, pp 145-163 (2001).

3) 総 説

Tabata, Y. : Recent progress in tissue engineering, *Drug Discovery Today*, 6 : 483-487(2001).

田畑泰彦：再生医学における材料学の役割，再生医学と組織工学 -- 現状と今後の課題，医学のあゆみ，第1土曜特集号，196 : 301-306 (2001)。

田畑泰彦：再生医学における生体材料の重要性，先端ウオッチング調査「21世紀の化学の潮流を探る」No.6「バイオマテリアル：生命機能の制御と再生医療をめざして」pp29-41 (2001)。社団法人 日本化学会。

田畑泰彦：基礎医学から呼吸器へのメッセージ，DDS の最前線，分子呼吸病学，5 : 63-64 (2001)。

田畑泰彦：特集「再生医学」に見る21世紀医療の可能性，*Doctor's Magazine* 5月号，7-15 (2001)。

田畑泰彦：ティッシュエンジニアリングと再生医学，*Doctor's Magazine* 8月号，38-39 (2001)。

田畑泰彦：細胞成長因子の放出制御と血管新生，組織培養工学 27 : 8-11 (2001)。

田畑泰彦：組織工学研究の最新の動向，特集：再生医療の最前線と産業化への取り組み，*BIO ベンチャー*，1 : 44-51 (2001)。

田畑泰彦：細胞増殖因子の徐放化技術を用いた骨再建，*THE BONE*，15 : 45-48 (2001)。

田畑泰彦：細胞増殖因子と生体再生，遺伝子医学，5 : 111-114 (2001)。

田畑泰彦：組織再生とその臨床への応用，*DDS*，16 : 465-473 (2001)。

田畑泰彦：再生医科学における生体材料の役割と重要性，関西TLO技術情報クラブ会報，3(2)，1-3 (2001)。

仲瀬裕志，千葉 勉，田畑泰彦：Drug delivery system を応用した炎症性腸疾患治療法の開発，*医学のあゆみ*，199 : 119-123 (2001)。

Yasukawa, T., Kimura, H., Tabata, Y. & Y. Ogura. : Biodegradable scleralplugs for vitreoretinal drug delivery, *Adv. Drug Delivery Review*, 52 : 25-36(2001).

Kimura, H., Yasukawa, T., Tabata, Y. & Ogura. Y. : Drug targeting to choroidal neovascularization, *Adv. Drug Delivery Review*, 52 : 79-91 (2001).

◆ 学会等の講演 ◆

1) 学会・研究会発表

榑原 裕, 丹原圭一, 陸 方林, 山本雅哉, 岩倉 篤, 三和千里, 野本卓也, 小山忠明, 洞井和彦, 田畑泰彦, 西村和修, 米田正始: 重症心不全に対する新しい治療を目指して, 第15回心臓血管外科ウインターセミナー, (2001.11.24-26 苗場)

榑原 裕, 仁科 健, 三和千里, 丹原圭一, 山本雅哉, 陸 方林, 田畑泰彦, 西村和修, 米田正始: 心不全に対する左室形成と細胞移植. 第65回日本循環器学会総会, (2001.3.25-26 京都)

榑原 裕, 山本雅哉, 丹原圭一, 西村和修, 田畑泰彦, 米田正始: 虚血心筋に対する線維芽細胞増殖因子徐放投与の有用性, 第5回心筋内血管形成術研究会, (2001.7.7 津)

榑原 裕, 陸 方林, 丹原圭一, 山本雅哉, 仁科 健, 三和千里, 野本卓也, 西村和修, 田畑泰彦, 米田正始: 心不全に対する細胞移植治療とその可能性, 第2回心血管再生医学研究会, (2001.10.13 大阪)

Sakakibara, Y., Yamamoto, M., Tambara, K., Lu, F., Tabata, Y., Nishimura, K., and Komeda, M. Prevascularization with Gelatin Microspheres Containing Basic Fibroblast Growth Factor Enhances the Benefits of Cardiac Myocyte Transplantation. The Sixth International Symposium on Tissue Engineering for Therapeutic Use, (2001.10.25-26 Osaka)

Sakakibara, Y., Komeda, M., Tabata, Y., Iwakura, A.: Biotechnology-Assisted Cardiovascular Surgery. 6th US-Japan Symposium on Drug Delivery Systems, (2001.12.16-21 Hawaii)

Komeda, M., Sakakibara, Y., Fanglin, L., Tanbara, T., Nishina, T., Miwa, S., Nomoto, T., Handa, N., and Nishimura, K.: Alternative treatment for severe congestive heart failure-LV plasty and/or cell transplant therapy, 国立循環器病センター-COE 国際シンポジウム, (2001.2.8-9 Osaka)

Komeda, M., Sakakibara, Y., Yamamoto, M., Nishimura, K., Yuasa, S., Nishina, T., Miwa, S., Hanada, N., Nomoto, T., Tanbara, K., Sakakibara, Y., Yamamoto, M., Nishimura, K., Yuasa, S., Nishina, T., Miwa, S., Hanada, N., Nomoto, T., Tanbara, K., and Tabata, Y.: Transplanting cells for treatment of cardiomyopathy. Symposium, 10th International Congress on Cardiovascular Pharmacology, (2001.3.27-30 Kyoto)

米田正始, 洞井和彦, 田畑泰彦: 心臓手術後の胸骨再生デバイス, 京大 iic フェアーズプレゼンテーション, (2001.11.21 大阪)

岩倉 篤, 田畑泰彦, 榑原 裕, 片岡一明, 野原隆司, 藤田正俊, 西村和修, 米田正始: Basic fibroblast growth factor (bFGF) による血管新生療法と心臓外科での応用, 第31回日本心臓血管外科学会, (2001.2.8 宇都)

Iwakura, A., Fujita, M., Tabata, Y., Akio I, Yanazume, T., and Komeda M.: Intravenous infusion of basic fibroblast growth factor prevents monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats, American College of Cardiology 50th Annual Scientific Session, (2001.3.18 Orlando)

岩倉 篤, 田畑泰彦, 洞井和彦, 小山忠明, 西村和修, 中村達雄, 清水慶彦, 米田正始: 開心術後胸骨治癒改善への再生医学的アプローチ, 第101回日本外科学会総会, (2001.4.11-13 仙台)

Iwakura, A., Tabata, Y., Koyama, T., Doi, K., Kataoka, K., Nohara, R., Fujita, M., Nishimura, K.: Gelatin Sheet Incorporating Basic Fibroblast Growth Factor Enhances Healing of the Devascularized Sternum in a Large Animal Model, 74th American Heart Association, (2001.11.11-14 Anaheim)

Okamoto, T., Yamamoto, Y., Yokomise, H., Tabata, Y.: Conductance of canine tracheal cartilage regeneration using a

bone morphogenetic protein (BMP-2) slow releasing gelatin sponge, XIVth Aachen Colloquium on Biomaterials, (2001.3.8 Aachen)

岡本 卓, 山本恭通, 横見瀬裕保, 田畑泰彦: 気管軟骨症モデルでの Bone Morphogenetic Protein-2 (BMP-2) 徐放ゼラチンスポンジによる骨・軟骨再生の効果, 第24回日本気管支学会総会, (2001 5 24 千葉)

Okamoto, T, Yamamoto, Y., Yokomise, H., Tabata, Y.: Cartilage regeneration using a bone morphogenetic protein (BMP)-2slow releasing gelatin sponge to treat tracheomalacia, American Society for Artificial Internal Organs 47th. Annual Conference, (2001.6.7-9 New York)

中野貴由, 海原一裕, 馬越佑吉, 田畑泰彦, 洪 流, 榎本昭二, 丸川恵理子: 生体内硬組織における HAp 結晶の配向性とその再生過程, 第3回生体組織工学シンポジウム, (2001 3 .16 吹田)

中野貴由, 海原一裕, 馬越佑吉, 洪 流, 田畑泰彦, 丸川恵理子, 榎本昭二: 生体内硬組織における HAp 結晶の配向性, 日本金属学会2001年春期講演第128回大会, (2001 3 29-30 習志野)

中野貴由, 海原一裕, 馬越佑吉, 田畑泰彦, 長田奈津紀, 榎本昭二, 丸川恵理子: 再生医学と材料工学の融合, 第3回21世紀の境界領域研究を考えるシンポジウム, (2001 5 .17 吹田)

中野貴由, 海原一裕, 馬越佑吉, 田畑泰彦: 再生医学に対する材料工学的アプローチ -- HAp 結晶の配向性を利用した硬組織の評価 -- , 第167回材料科学談話会, (2001 7 .10 春日)

Kasahara, H., Hattan, N., Kimura, K., Ban, K., Tanaka, E., Sakamoto, H., Tabata, Y., Iseki, N., Shinozaki, Y., Koide, S., and Mori, H. Importance of the responsiveness of new vessels to adenosine in therapeutic angiogenesis, 第65回日本循環器学会学術集会, (2001 3 25-26 京都)

笠原啓史, 田中越郎, 八反尚一郎, 井関治和, 伴和信, 佐藤江利子, 木村剛爾, 桑原江理子, 坂本裕美, 田畑泰彦, 小出司郎策, 中澤博江, 盛 英三: 微小循環における新生血管の反応性の意義, 第78回日本生理学会大会, (2001 3 29 京都)

笠原啓史, 田中越郎, 八反尚一郎, 木村剛爾, 伴和信, 井関治和, 坂本裕美, 田畑泰彦, 小出司郎策, 盛 英三: 血管新生療法における血管調節能の重要性第54回日本胸部外科学会総会, (2001 .10 3-4 大阪)

Mori, H., Tanaka, E., Shinozaki, Y., Kasahara, H., Ando, K., Sakamoto, H., and Tabata, Y.: Potentiation of angiogenic gene therapy with biodegradable gelatin hydrogel evidenced by synchrotron radiation microangiography, 第65回日本循環器学会, (2001 3 25-26 京都)

Iseki, H., Tanaka, E., Ando, K., Fukuyama, N., Hattan, N., Takano, H., Abe, S., Tabata, Y., Handa, S., Mori, H.: A promising gene therapy for the prevention of poststenting restenosis: a new "Trojan horse" delivery technique within macrophages using gelatin hydrogel 10th International Congress on Cardiovascular Pharmacotherapy, (2001.3.28 Kyoto)

井関治和, 田中越郎, 安藤潔, 福山直人, 八反尚一郎, 高野秀樹, 阿部純久, 田畑泰彦, 半田俊之助, 盛英三, 中澤博江: ゼラチンハイドロゲルとステントを用いた新しい血管内遺伝子導入法, 第78回日本生理学会大会, (2001 3 29 京都)

福中泰紀, 尾関真, 岩永一範, 森本一洋, 掛見正郎, 田畑泰彦: カチオン化ゼラチンハイドロゲルを用いた plasmid DNA のコントロールリリース, 日本薬学会第121年会, (2001 3 28-30 札幌)

福中泰紀, 尾関真, 岩永一範, 森本一洋, 掛見正郎, 田畑泰彦: plasmid DNA の徐放化による遺伝子発現期間のコントロール, 第17回日本 DDS 学会, (2001 7 .12-13 大阪)

福中泰紀, 尾関真, 田畑泰彦: 生体吸収性のカチオン性ゼラチンハイドロゲルを利用した plasmid DNA の徐放化,

第23回日本バイオマテリアル学会, (2001.10.22-23 京都)

森本一洋, 王 健, 坂井滋子, 田内義彦, 出口芳春, 田畑泰彦: インスリンの鼻粘膜吸収におけるアミノ化ゼラチンの吸収促進効果について, 第121年会日本薬学会, (2001.3.28-30 札幌)

森本一洋, 王 健, 坂井滋子, 田内義彦, 出口芳春, 田畑泰彦, 富田幹雄, 林 正弘: アミノ化ゼラチンによるペプチド性医薬品の鼻粘膜吸収促進効果と機構, 第17回日本 DDS 学会, (2001.7.12-13 大阪)

Morimoto, K., Wang, J., Deguchi, Y., and Tabata, Y. Aminated gelatin microspheres as gastric mucoadhesive drug delivery system for eradication of H. pylori. World Congress of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences 2001, 61st International Congress of FIP, (2001.9.1-3 Singapore)

石井倫裕, 平野義明, 沖 龍馬, 青山輝義, 田畑泰彦: 超音波照射による PEG 化フラーレンの抗がん活性, 第121回日本薬学会, (2001.3.28-30 札幌)

海原一裕, 中野貴由, 馬越佑吉, 洪流, 田畑泰彦: 成長因子により再生された一軸配向性硬組織(家兎長骨)での HAp 結晶の配向性, 日本金属学会2001年春期講演第128回大会, (2001.3.29-30 習志野)

海原一裕, 中野貴由, 馬越佑吉, 洪流, 田畑泰彦: 二軸配向性硬組織(家兎頭蓋骨)の HAp 再生課程, 日本金属学会2001年春期講演第128回大会, (2001.3.29-30 習志野)

海原一裕, 中野貴由, 馬越佑吉, 田畑泰彦, 長田奈津紀: 扁平骨における HAp 結晶子の配向性評価, 日本金属学会2001年秋期講演第129回大会, (2001.9.24-25 北九州)

山本雅哉, 高橋佳丈, 田畑泰彦: 徐放性骨形成因子による異所性骨形成の促進, 第21回骨カルシウム代謝研究会, (2001.4.6 京都)

山本雅哉, 榊原 裕, 西村和修, 米田正始, 田畑泰彦: 血管新生を誘導した慢性虚血性心筋症ラットに対する心筋細胞移植の効果, 第22回日本炎症・再生医学会, (2001.7.2-3 東京)

山本雅哉, 榊原 裕, 丹原圭一, 陸 方林, 西村和修, 米田正始, 田畑泰彦: 細胞増殖因子徐放化システムの虚血性心疾患モデルへの応用, 第5回心臓血管病科学カンファレンス, (2001.7.14 京都)

Yamamoto, M., Sakakibara, Y., Nishimura, K., Komeda, M., and Tabata, Y.: Improved efficacy in cardiomyocyte transplantation for myocardial infarction therapy by controlled release of basic fibroblast growth factor. The 13th World Congress of International Society for Artificial Organs, (2001.11.5-8 Osaka)

Yamamoto, M., Sakakibara, Komeda, M., and Tabata, Y.: Cardiomyocyte transplantation for myocardial infarction therapy. Symposium on Tissue Engineering National Taiwan University and Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University, (2001.11.19-20 Kyoto)

山本雅哉, 高橋佳丈, 田畑泰彦: 骨形成因子の徐放化とその骨形成作用, 第59回(財)日本化学繊維研究所講演会, (2001.11.20 京都)

Yamamoto, M., Sakakibara, Y., Nishimura, K., Komeda, M., and Tabata, Y.: Improved efficacy in cardiomyocyte transplantation for myocardial infarction therapy through prevascularization induced by controlled release of basic fibroblast growth factor. 5th Asian Symposium on Biomedical Materials, (2001.12.9-12 Hong Kong)

仲瀬裕志, 岡崎和一, 千葉 勉, 田畑泰彦: 炎症性腸疾患に対する IL-10含有 Gelatin microsphere を応用したサイトカイン療法の開発, 第87回日本消化器病学会総会, (2001.4.18 東京)

尾関 真, 木村 祐, 稲本 俊, 田畑泰彦: 徐放化線維芽細胞増殖因子による脂肪組織の再生医学, 第9回細胞療法研究会, (2001.4.20-21 松本)

尾関 真, 田畑泰彦: ゼラチンと相互作用した HGF の細胞増殖活性, 第30回医用高分子シンポジウム, (2000.7.30)

・31 東京)

尾関 真, 田畑泰彦: 徐放化血管内皮細胞増殖因子の毛包組織に対する効果, 第23回バイオマテリアル学会, (2001.10.22-23 京都)

Ozeki, M., and Tabata, Y.: Controlled release of hepatocyte growth factor from gelatin hydrogel. 5th Asian Symposium on Biomedical Materials, (2001.12.9-12 Hong Kong)

Kinoshita, Y., Yokoya, S., Fukuoka, S., Mizunuma, H., Tabata, Y., Ikada, Y.: Tissue Engineering of Jaw Bone-Potential Efficacy of bFGF-Incorporated Gelatin Microspheres for Bone Formation of Mandibular Defect-. 15th International Conference on Oral & Maxillofacial Surgery, (2001.5.19-24 Duran)

Shigeno, K., Nakamura, T., Inoue, M., Ueda, H., Toba, T., Lynn, A., Liu, Y., Suzuki, K., Yoshitani, M., Kobayashi, E., Fukuda, S., Nakahara, T., Tabata, Y., Miya, M., Shimizu, Y.: Application of TGF- β 1 for Reconstruction of Mandibular Bone Defect, American Society for Artificial Internal Organs 47th. Annual Conference, (2001.6.7-9 New York)

Ueda, H., Hong, L., Nakamura, T., Tabata, Y., Shimizu, Y.: Bone Repair through Controlled-Release of Transforming Growth Factor β 1(TGF- β 1) from Collagen Sponge, American Society for Artificial Internal Organs 47th. Annual Conference, (2001.6.7-9 New York)

Ueda, H., Nakamura, T., Tabata, Y., Shimizu, Y.: Repairing of Rabbit Skull Defect by TGF- β 1-Incorporated Collagen Sponges of Different Thickness, 5th. Asian Symposium on Biomedical Materials, (2001.12.9-12 Hong Kong)

斎藤亮彦, 風間順一郎, 飯野則昭, 長 賢治, 佐藤暢夫, 小山裕子, 竹田徹朗, 下条文武, 田畑泰彦: メガリン発現細胞を用いた尿毒素蛋白代謝機能の再生, 第12回 新潟外科系領域バイオメディカル研究会, (2001.6.8 新潟)

斎藤亮彦, 風間順一郎, 飯野則昭, 長 賢治, 山崎 肇, 佐藤暢夫, 下条文武, 田畑泰彦: メガリン発現細胞の皮下移植による尿毒素蛋白代謝, 第46回 日本透析医学会学術集会・総会 (2001.6.22 大阪)

井上幸子, 仲瀬裕志, 岡崎和一, 千葉勉, 田畑泰彦: 薬物含有ポリ乳酸微粒子サイズに与える粒子作製条件の影響, 第47回高分子研究発表会, (2001.7.6 神戸)

沖 龍馬, 杉之下与志樹, 田畑泰彦: 薬物キャリアとしてのキレート残基をもつプルランの作製, 第47回高分子研究発表会, (2001.7.6 神戸)

沖 龍馬, 杉之下与志樹, 田畑泰彦: キレート残基導入プルランを用いた IFN 活性の肝臓ターゲティング, 第17回日本 DDS 学会, (2001.7.12-13 大阪)

木村 祐, 尾関 真, 稲本 俊, 田畑泰彦: 徐放化細胞増殖因子と脂肪前駆細胞との組み合わせによる脂肪組織の新生, 第4回日本組織工学会, (2001.7.6-7 川崎)

木村 祐, 尾関 真, 稲本 俊, 田畑泰彦: 脂肪前駆細胞と徐放化細胞増殖因子と用いた脂肪の in vivo 組織工学, 第23回日本バイオマテリアル学会大会, (2001.10.22-23 京都)

Kimura, Y., Ozeki, M., Inamoto, T., Tabata, Y.: Adipose Tissue Engineering by Preadipocytes Combined with Controlled Release of Basic Fibroblast Growth Factor, 5th Asian Symposium on Biomedical Materials, (2001.12.9-12 Hong Kong)

Hosseinkhani, H., Aoyama, T., Ogawa, O. and Tabata, Y.: Ultrasound enhancement of transfection efficiency of plasmid DNA complexed with cationized gelatin, 第17回日本 DDS 学会 (2001.7.12-13 大阪)

青山輝義, 小川 修, 石井倫裕, 平野義明, 沖 龍馬, 田畑泰彦: 超音波照射による PEG 化フラーレンの抗がん

活性, 第17回日本 DDS 学会, (2001.7.12-13 大阪)

兼松明弘, 山本新吾, 田畑泰彦, 小川 修: 尿路系の再生医学の現在, 第10回日本小児泌尿器科学会総会 (2001.7.12-13 東京)

山本新吾, 野口哲哉, 兼松明弘, 青山輝義, 賀本敏行, 寛 善行, 中村達夫, 清水慶彦, 田畑泰彦, 小川 修: コラーゲンを利用した膀胱グラフトの開発および増殖因子を利用した平滑筋の Tissue engineering, 第10回日本小児泌尿器科学会総会, (2001.7.12-13 東京)

Yamamoto, S., Aoyama, T., Kanematsu, A., Tabata, Y. and Ogawa, O.: Regeneration of renal structure in rat model, The18th Korea-Japan Urological Congress, (2001.9.14-15 Seoul)

洞井和彦, 田畑泰彦, 岩倉 篤, 榊原 裕, 仁科 健, 西村和修, 中村達雄, 清水慶彦, 米田正始: bFGF と細胞移植を用いた胸部外科領域の再生医学, 第54回日本胸部外科学会総会, (2001.10.3-4 大阪)

片岡 誠, 山崎裕加子, 坂根稔康, 瀬崎 仁, 田畑泰彦, 山下伸二: 難水溶性薬物の経口吸収性評価システムの構築 -- In vivo における消化管内 condition を考慮したシステム --, 第16回日本薬物動態学会年会, (2001.10.17-19 神戸)

渡部則彦, 岡崎和一, 千葉 勉, 田畑泰彦: 粘膜局所のマクロファージをターゲットとした炎症性腸疾患の治療法の開発, 第43回日本消化器病学会大会, (2001.10.18 京都)

松浦 稔, 仲瀬裕志, 岡崎和一, 田畑泰彦: 炎症性腸疾患におけるデキサメサゾン含有マイクロスフェアの粘膜修復過程での腸管上皮再生への影響, 第43回日本消化器病学会大会, (2001.10.18 京都)

高橋佳丈, 山本雅哉, 田畑泰彦: ゼラチンハイドロゲルからの骨形成因子の徐放化とその骨形成能, 第23回日本バイオマテリアル学会大会, (2001.10.22-23 京都)

山口百合香, 畑 文明, 田畑泰彦: 塩基性線維芽細胞増殖因子による繊維径の異なる不織布内への血管誘導, 第23回日本バイオマテリアル学会大会, (2001.10.22-23 京都)

北郷明成, 久保諠修, 高橋佳丈, 堀内 薫, 白数力也, 田畑泰彦: 生体吸収性高分子膜, 自家血管束および骨髓海綿骨細片を用いた二次的血管柄付移植骨片の作製, 第23回日本バイオマテリアル学会, (2001.10.22-23 京都)

北郷明成, 久保諠修, 田畑泰彦, 堀内 薫, 白数力也: L-lactide-ε-caprolactone copolymer membrane, 自家血管束および骨髓海綿骨細片 (PCBM) を用いた二次的血管柄付移植骨片の作製, 第46回日本口腔外科学会総会, (2001.10.25-26 鹿児島)

Hokugo, A., Takahashi, Y., Kubo, Y., Horiuchi, K., Shirasu, R., and Tabata, Y.: Preparation of prefabricated vascularized bone graft with biodegradable polymer membrane. 6th US-Japan Symposium on Drug Delivery Systems, (2001.12.16-21, Hawaii)

Yamashiro, H., Hirose, T., Oe, S., Ozeki, M., Kimura, Y., Tabata, Y., Inamoto, T., and Yamaoka, Y.: Adipogenesis with Basic Fibroblast Growth Factor Gene Transferred Human Preadipocyte, The Sixth International Symposium on Tissue Engineering for Therapeutic Use, (2001.10.25-26 Osaka)

福岡真一, 横矢重俊, 水沼秀之, 井上 聡, 木下勲彦, 小園 知, 田畑泰彦, 筏 義人: bFGF 含浸ゼラチン粒子の骨髓海綿骨細片移植の骨形成に及ぼす影響, 第46回日本口腔外科学会総会, (2001.10.25-26 鹿児島)

Doi, K., Inoue, S., Nishimura, K., and Komeda, M.: Controlled Release of Vancomycin with Biodegradable Polymer against Postoperative Mrsa Infections in Cardiovascular Surgery, The13th World Congress of International Society for Artificial Organs, (2001.11.5-8 Osaka)

2) 講演

田畑泰彦：生体吸収性材料を利用した再生医学，近畿化学協会バイオ部会発足記念セミナー，特別講演(2001.1.11 大阪)

田畑泰彦，山本雅哉：細胞増殖因子の徐放化を利用した骨形成，第2回生体融和材料シンポジウム，(2001.2.1-2 つくば)

田畑泰彦：生体材料とティッシュエンジニアリング，北海道大学歯学研究会，(2001.2.7 札幌)

Tabata, Y., and Ikada, Y.: Anti-Tumor Effects of PEG-Modified Fullerene Combined with External Physical Stimuli, 招待講演，国際フラーレンワークショップ2001 (2001.2.20-21 東京)

田畑泰彦：生体吸収性材料を用いた骨再生，神奈川歯科大学特別講演会，(2001.2.21 神奈川)

田畑泰彦：細胞成長因子の徐放による血管新生，日本バイオマテリアル学会特別シンポジウム (2001.3.13 東京)

田畑泰彦：再生医学における生体材料の重要性，日本化学会春季年会イブニングセッション「21世紀の化学の潮流を拓く」，招待講演 (2001.3.26-28 神戸)

田畑泰彦：細胞増殖因子の徐放化による骨再生，第21回骨カルシウム代謝研究会，(2001.4.6 京都)

田畑泰彦：再生医科学における生体材料の役割と重要性，関西 TLO2001年度総会，特別講演 (2001.6.20 京都)

Tabata, Y.: Trials of Tissue Regeneration Based on Growth Factor Release, International Conference on Material for Advanced Technologies, 招待講演 (2001.7.1-6 Singapore)

田畑泰彦：組織工学における徐放化 DDS 技術の重要性，細胞療法の展開と DDS への提言，第17回日本 DDS 学会シンポジウム，(2001.7.12-13 大阪)

田畑泰彦：DDS は再生医学において必要不可欠な技術である，日本薬剤学会第26回製剤セミナー，特別講演 (2001.7.16-18 木更津)

田畑泰彦：Tissue Engineering とバイオマテリアル，第15回新潟泌尿器腫瘍セミナー，特別講演 (2001.7.27 新潟)

田畑泰彦：生体吸収性材料と DDS 技術とを利用したティッシュエンジニアリング，第16回新潟腎臓シンポジウム，特別講演 (2001.7.28 新潟)

田畑泰彦：生体材料を用いた再生医学，第4回 UTP シンポジウム，特別講演 (2001.7.29 東京)

Tabata, Y.: Drug Delivery for Tissue Engineering, Advances in Tissue Engineering, Advances in Tissue Engineering, 教育講演 (2001.8.15-19 Texas)

田畑泰彦：ティッシュエンジニアリングと DDS，第21回日本眼薬理学会，特別講演 (2001.9.14 東京)

田畑泰彦：配位結合を利用した加齢黄斑変性に対するインターフェロンのターゲティング療法，第67回日本中部眼科学会および関連研究会，(2001.9.21-23 金沢)

田畑泰彦：骨の再生医学と材料，社団法人日本セラミックス協会「21世紀記念」第14回秋季シンポジウム「戦略フォーラム」，特別講演 (2001.9.26-28 東京)

田畑泰彦：医学におけるティッシュエンジニアリング，長崎大学第2内科学術講演会，特別講演 (2001.10.10 長崎)

田畑泰彦：細胞増殖因子による骨修復，第23回日本バイオマテリアル学会，シンポジウム，(2001.10.22-23 京都)

田畑泰彦：生体吸収性材料とドラッグデリバリーシステムを基礎とした組織工学，兵庫県立病院医学会，特別講演 (2001.10.27 神戸)

田畑泰彦：再生医学のための生体材料，第39回日本癌治療学会総会，教育講演 (2001.11.7-9 広島)

田畑泰彦：生体組織工学と再生医療，第一回山梨再生・移植研究会，特別講演（2001.11.21 甲府）

Tabata, Y., and Ikada, Y.: Tissue Engineering Trials Based on Drug Delivery System Technology, 6th US-Japan Symposium on Drug Delivery Systems, 招待講演 (2001.12.16-21 Hawaii)

Aoyama, T., Hosseinkhani, H., Ogawa, O. and Tabata, Y.: Enhancement of transfection efficiency of plasmid dna by ultrasound, The 28th International Symposium on Controlled Release of Bioactive Materials 2001 San Diego Symposium, (2001.6.23-27 San Diego)

組織修復材料学分野

Department of Reporative Materials

【研究概要】

現代医療を支える学問的基盤は基礎医学や生物学だけではない。これまでも多くの工学研究の成果が医療技術の発展に多大な貢献をなしてきた。このような境界領域における工学研究の役割は、今後、ますます重要になるものと予想される。当分野では、マテリアルエンジニアリングやバイオエンジニアリングの研究を通じて先端医療の発展に寄与することを目指し、以下の研究課題に取り組んでいる。

1. 再生医工学

病気やケガで大きく損なわれた体の機能・構造を再び蘇らせる治療法を「再生医療」と呼ぶ。この夢のような治療法が、医学と工学の連携によって今まさに花開かんとしている。当分野では、再生医療に欠かせない「移植細胞」や「人工細胞外マトリックス」をいかにして創り出し、それをもとに複雑な組織や臓器を再生させるための方策について研究を行っている。

- (1) 幹細胞工学：幹細胞（ES細胞，組織幹細胞，臍帯血由来幹細胞）を各種の機能細胞（インスリン産生細胞，神経細胞，血管内皮細胞）へ分化誘導したり，それらを選別・回収するためのバイオアクティブ高分子基材の開発。
- (2) 3次元組織構築：人工材料を利用して3次元構造をもつ組織を創り出すための戦略に関する研究。

2. バイオ人工臓器

肝臓や脾臓は体の代謝機能を担う重要な臓器である。これらが重篤な疾患に陥ると，生命の維持すらうまく行えないことになる。当分野では，代謝系臓器の代替デバイスとして，生きた細胞と人工材料を組み合わせたバイオ人工臓器を開発し，臨床応用に向けた研究を行っている。

- (1) バイオ人工肝臓：高分子中空系型モジュールの内部に肝細胞を高密度に封入したバイオ人工肝臓の開発。患者の血液を体外循環によって灌流し，代謝産物の解毒や必須タンパク質の供給を行う。
- (2) バイオ人工脾臓：インスリン産生細胞を免疫隔離膜製のマイクロカプセル内に封入したバイオ人工脾臓の開発。患者の体内に埋め込み，インスリンを産生させることで血液中の糖濃度を調節する。
- (3) 免疫隔離膜：移植細胞をレシピエントの液性ならびに細胞性免疫から隔離するための半透性高分子膜の分子設計。

3．低侵襲治療デバイス

外科手術による患者への侵襲をできる限り軽減しようとする努力がなされている．われわれは，これを可能にする医療用デバイスの開発を材料工学の立場から追求している．ここでは，脳外科分野の研究者や医療機器メーカーの技術者との協力体制で研究に取り組み，早期の臨床応用を目指す．

- (1) 血管内手術用具：脳や心臓の微細な血管内部に体の遠隔部からアクセスし，血管の狭窄や動脈瘤を治療するための血管内治療用具の開発（高分子製カテーテル，金属製ステント，血管塞栓用高分子）．
- (2) 遺伝子治療デバイス：血管内壁の組織形成を局所的に制御するための *in situ* 遺伝子治療デバイスの設計．
- (3) 中枢神経修復材料：損傷した脊椎を固定・修復するための椎間板固定器具の開発．

4．細胞マイクロアレイ

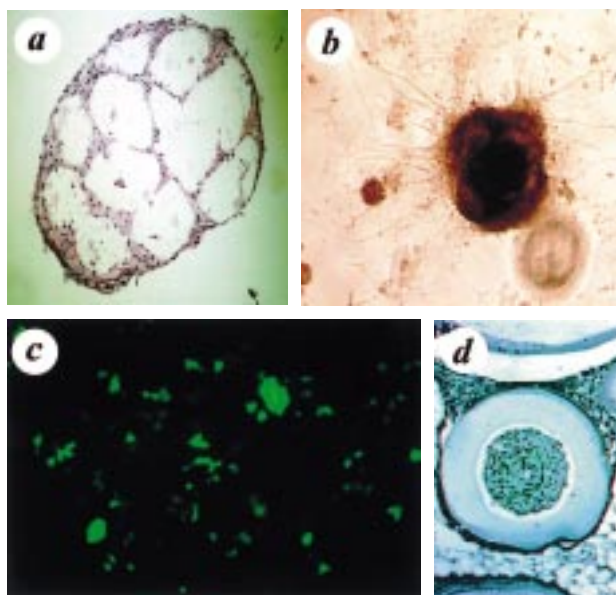
膨大な数の細胞種についてそれらの機能や代謝を短時間で解析するための細胞マイクロアレイの開発を行っている．ここでは，材料表面のマイクロパターン化技術，細胞のマイクロマニピュレーション技術，細胞機能の高速度分析システムとデータ解析手法などが必須である．細胞マイクロアレイはポストゲノム時代のバイオ産業を支える重要な研究・開発ツールとなることが予想される．

- (1) 薬物スクリーニング：種々の細胞を配置したマイクロアレイ上での新規生理活性物質の高速スクリーニング．
- (2) 遺伝子導入アレイ：材料表面上での *in situ* 遺伝子導入法を利用した細胞マイクロアレイの設計と応用．

5．表面化学

上で述べた各種のデバイスはいずれも細胞や組織のような生きた生体システムと体内あるいは体外で接触し，そのインターフェースで起こる様々な分子間相互作用を通して目的とする機能を発揮する．そのため，材料表面に接した生体システムの振る舞いを詳細に把握したり，目的に応じて精密に制御することが必要になる．当分野では，様々な物理化学的，生物学的手法を用いてこれらの課題に取り組んでいる．

- (1) 表面プラズモン共鳴：表面プラズモン共鳴現象を利用した材料表面 -- 生体分子間相互作用のリアルタイム観測に関する基礎研究．
- (2) 材料 -- 生体分子間相互作用：生体異物反応に関わる分子間相互作用（タンパク質吸着，補体活性化など）の生体モデル系における解析．
- (3) 自己組織化単分子膜：金表面におけるアルカンチオール分子の自己組織化を利用した機能性表面の設計と様々な手法を用いた高感度表面分析．
- (4) 環境応答性表面：感温性高分子からなるゲル薄膜や高分子電解質複合体膜を利用した材料表面の機能化．



(a)平滑筋細胞からなる3次元組織体，(b)高分子基材表面で神経に分化誘導されたES細胞塊，(c)DNA担持表面でトランスフェクションしたHEK293細胞によるGFPの発現，(d)膵島を免疫離膜に封入した人工膵臓．

Modern medical treatments have been developed from not only modern pharmaceutical sciences and molecular biology, but also biomedical engineering. The role of researchers whose background is engineering will be to become more important in such boundary research area in future. We aim to train

students from the graduate school of engineering for the biomedical engineer through the researches. Research subjects of our department are listed below :

Cell culture substrates for regenerative medicine

Cells and extracellular matrixes are important raw materials for regenerative medicine. In recent years, many research groups have devoted enormous efforts to establish in vitro culture conditions in which stem cells, such as ES cells and tissue stem cells, differentiate into various functional cells. Those cells are expected to be very useful for treatment of various diseases. Many kinds of stromal cells have been used to differentiate stem cells to functional cells. However, most of stromal cells preferentially used are derived from mice. Some authorities who are in charge of regulatory issue have pointed out the difficulty to rule out the possibility that retrovirus incorporated in mouse gene will be activated and transferred to stem cells and functional cells derived from stem cells. One of our research activities is focussed on development of the stromal cell free culture system used for differentiation of ES cells to various functional cells. ES cells cultured on the substrate, onto which bioactive molecules isolated from stromal cells are immobilized, effectively differentiated to dopaminergic neurons.

Conventional cell culture substrates are not always suitable for cells used for regenerative medicine. Neuron differentiated from ES cells in vitro are very difficult to be collected from cell culture flask without deterioration of cell functions, because long axons from neurons are easily damaged during detachment neural cells from the cell culture substrate. Cell sheets but not single cells are needed in some instance, such as regeneration of a skin and a mucous membrane. We have been examining a film of cellulose derivatives for a cell culture substrate. Cells cultured on it are removed by cellulose degradation enzyme, cellulase, without damaging cells on the substrate.

Bioartificial organs

Bioartificial Liver : Liver is a unique organ that has a strong potential for regeneration. Even after the liver is severely damaged, its regeneration can be expected if the patient is appropriately supported by a medical device for a certain time. A bioartificial liver that contains a large number of living hepatocytes is the most promising device for liver support. We prepare a bioartificial liver by inoculating ten billion porcine hepatocytes into a hollow fiber module. Hepatocytes in hollow fibers formed a firm aggregate of noodle shape after one day culture. The metabolic functions of the bioartificial liver were evaluated by loading several chemicals. Our bioartificial liver maintained about 1/20 of the metabolic function of the normal adult human liver for more than 10 days.

Bioartificial pancreas : Islets of Langerhans have been transplanted to treat insulin-dependent diabetes patients. Adult pancreatic β -cells are known to have a poor growth capacity. Islets containing β -cells from cadaver donors or animals should be employed. In bioartificial pancreas, islets are encapsulated into a semi-permeable membrane and then implanted into the diabetic patients to protect them from immune rejection. The semipermeable membrane permits permeation of oxygen and nutrient which are necessary for islet survival, but prohibits contact of islet cells with components of the host immune system. We encapsulated islets into agarose based microbeads and induced normalization of blood glucose levels of diabetic recipient mice by implanting 1000 microencapsulated hamster islets into the peritoneal cavity.

Medical devices for least invasive surgery :

Endovascular surgery is recognized as one of the strategies for the treatment of various neuro-vascular diseases such as cerebral or spinal arteriovenous malformations, dural arteriovenous fistulas and cerebral aneurysms. In this method, a microcatheter is advanced into or close to a lesion and then the lesion is treated by various methods, such as embolization and stenting. It is not so invasive and thus is accepted as an attractive therapy making up conventional surgical techniques. We have been working on the development of new devices, such as good catheters, effective embolic materials and smart stents for more than 20 years.

Surface chemistry for biomedical materials :

The complement system plays a crucial role in the initial reactions against man-made materials with living bodies. It is necessary to elucidate the complement activation mechanism in relation to the surface properties to be able to rationally design biocompatible surfaces of synthetic materials. Most of information on the complement activation by artificial polymeric materials has been accumulated from studies with dialysis membranes. However, polymer surfaces could not be assumed rigid and immobile at equilibrium. The polymer molecules in the vicinity of the surface or interface would exhibit motion and relaxation in response to the different interfacial environment. And thus it is difficult to prepare model surfaces using polymeric materials for studies of the complement activation. Self-assembled monolayers of alkanethiols formed on a gold thin film give well-defined model surfaces for studies on interfacial phenomena and intermolecular interactions. The surface plasmon resonance technique can analyze the interfacial phenomena under water. We have been studying the complement activation on well-defined surfaces made of self-assembled monolayers using the surface plasmon resonance technique.

【業績目録】**◆ 誌上発表 ◆****1) 原著論文**

- Murakami, Y., Iwata, H., Kitano E., Kitamura H., Ikada Y.: Interaction of poly(2-acrylamido-2-methylpropane sulfonate)-grafted polystyrene beads with cationic complement proteins. *J. Biomater. Sci. Polymer Edn.* **12** : 451-465 (2001).
- Park, Y.-G., Iwata, H., Ikada Y. : Derivation of pharmacokinetics equations for quantitative evaluation of bioartificial liver functions. *Bioartificial Organs III, Tissue Sourcing, Immunoisolation and Clinical Trials*, Hunkeler D., Cherrington, A. Prokop A., Rajotte, R. Eds., *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **944** : 296-307(2001).
- Ko, IK., Iwata, H. : An approach to constructing three-dimensional tissue. *Bioartificial Organs III, Tissue Sourcing, Immunoisolation and Clinical Trials*, Hunkeler D., Cherrington, A. Prokop A., Rajotte, R. Eds., *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **944** : 443-455 (2001).
- Ko, IK., Iwata, H. : Simple method to give cell attachment ability to biodegradable polyester. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* (In press)
- Zhao, X., Kato, K., Fukumoto, Y., Nakamae, K. : Synthesis of bioadhesive hydrogels from chitin derivatives. *Intern. J. Adhesion & Adhesives* **21** : 227-232 (2001).

Kato, K., Bar, G., Cantow, H.-J. : The interplay between surface micro-topography and -mechanics of type I collagen fibrils in air and aqueous media : An atomic force microscopy study, *Eur. Phys. J. E* **6** : 7-14 (2001).

Kato, K., Nishida, M., Yamane, H., Nakamae, K., Tagami, Y., Tetsumoto, K. : Glistening formation in an AcrySof lens initiated by spinodal decomposition of the polymer network by temperature change. *J. Cataract Refract. Surg.* **27** : 1493-1498 (2001).

2) 著 書

加藤功一(執筆分担) : 高分子材料(監修: 岩澤康裕, 梅澤喜夫, 澤田嗣郎, 辻井薫)「界面ハンドブック」(エヌ・ティー・エス, 東京) 1181-1189 (2001).

3) 総 説

佐藤秀樹・岩田博夫: 人工膀胱 -- この1年の進歩, *人工臓器* **30** : 104-106 (2001)

加藤功一: ゼラチンを用いた新規な組織粘着性ヒドロゲルの合成, *接着* **45** : 153-157 (2001).

加藤功一, 岩田博夫: バイオ人工臓器(膀胱, 肝臓), *遺伝子医学* **5** : 614-620 (2001).

◆ 学会等の発表 ◆

1) 学会・研究会発表

Iwata H, Reporative materials, First Japanese-Swiss Joint Workshop on Biomaterials, "Biomaterial-Tissue Interaction : Regeneration and Reconstitution in Medicine" (2001.9.17-19 Swiss)

岩田博夫: 金属表面に形成させた自己組織化膜の生体材料研究への応用, 第8回つくばバイオマテリアル研究会 (2001.11.20-21 つくば)

Kato K., Izutani S., Tazaki G., Miura K., Nakamae K., Collagen-modified artificial matrices for tissue engineering, Annual Meeting of the Interdisciplinary Club for Biomaterials in Ophthalmology (2001.6.5 Istanbul)

加藤功一, 藤本裕之, 山根尚徳, 中前勝彦: 高分子表面に吸着した補体フラグメントによるマクロファージの活性化, 第47回高分子研究発表会 (2001.7.6 神戸)

加藤功一, 川口美香子, 中前勝彦: ホスホリルコリン含有高分子による眼内レンズ表面のコーティング, 第47回高分子研究発表会 (2001.7.6 神戸)

加藤功一, 三浦響子, 中前勝彦: IV型コラーゲンをコーティングした高分子表面における角膜上皮細胞の接着性, 第47回高分子研究発表会 (2001.7.6 神戸)

加藤功一, 三浦響子, 中前勝彦: コラーゲン表面上での角膜上皮細胞の培養, 第4回眼科生体材料研究会 (2001.9.21 金沢)

村上能庸, 北野悦子, 北村 肇, 岩田博夫: アニオン性高分子電解質をグラフトした表面の factor D 吸着体としての可能性, 第38回補体シンポジウム (2001.8.24-25 京都)

小林恵美, 北野悦子, 村上能庸, 岩田博夫, 北村 肇: 血清補体価(CH50)は補体第2経路(AP)活性化を反映するか? 第38回補体シンポジウム (2001.8.24-25 京都)

藤堂和幸, 村上能庸, 岩田博夫: 胚性幹細胞の大量培養のためのカプセル化, 第47回高分子研究発表会 (2001.7.6 神戸)

平田伊佐雄・北澤隆行・岩田博夫：表面プラズモン共鳴解析装置を用いたアミノ基を有する表面と補体との相互作用の解析，第30回医用高分子シンポジウム（2001.7.30-31 東京）

松田晶二郎，近藤直毅，西沢あをい，加藤功一，岩田博夫，篠 義人：ポリウレタン製人工角膜の試作，第4回眼科生体材料研究会（2001.9.21 金沢）

佐藤秀樹，小屋松祐一，大山隆城，加藤功一，岩田博夫：プラスミド担持ステントの試作，第23回日本バイオマテリアル学会大会（2001.10.22-23 京都）

平田伊佐雄，加藤功一，岩田博夫：表面プラズモン解析装置を用いた Poly（N-isopropylacrylamide）薄膜の温度変化の観察，第23回日本バイオマテリアル学会大会（2001.10.22-23 京都）

Ko, I.K and Iwata H: Harvest of cell sheet from carboxymethyl cellulose coated surface and transferring it onto other surface, 2001 FALL MEETING OF THE KOREAN SOCIETY FOR BIOMATERIALS (4th Korea-Japan Joint Symposium on Biomaterials)（2001.9.21-22 韓国）

高 寅甲，岩田 博夫：セルロース誘導体培養基材 -- 細胞シートの作製，第30回医用高分子シンポジウム（2001.7.30-31 東京）

小屋松祐一，佐藤秀樹，岩田博夫：交互浸漬法による生体高分子担持ステントの作製，第30回医用高分子シンポジウム（2001.7.30-31 東京）

岡本 行広，岩田博夫：Poly（N-isopropylacrylamide）を用いた温度応答性表面の作製，第47回高分子研究発表会（2001.7.6 神戸）

大川淳也，西野孝，加藤功一，中前勝彦：各種無材料表面に吸着した両末端極性基含有ポリスチレンの表面間力，第50回高分子学会年次大会（2001.5.23-25 大阪）

有馬祐介，加藤功一，西野孝，中前勝彦：Langmuir-Blodgett 法により作製した混合単分子膜の滑水性，第50回高分子学会年次大会（2001.5.23-25 大阪）

島岡秀行，加藤功一，中前勝彦：ポリアクリル酸表面グラフト化ポリウレタンの組織粘着性，第50回高分子学会年次大会（2001.5.23-25 大阪）

田崎 剛，加藤功一，中前勝彦：コラーゲンフィブリルによる組織工学用マトリックスの表面改質および細胞応答の促進，第50回高分子学会年次大会（2001.5.23-25 大阪）

Nakamae K., Kato K., Tetsumoto K., Tagami Y., Yamanaka A., In vitro simulation of glistening formation in soft IOLs, Annual Meeting of the Interdisciplinary Club for Biomaterials in Ophthalmology (2001.6.5 Istanbul)

Nakamae K., Kato K., Tetsumoto K., Tagami Y., Yamanaka A., Molecular mechanism of glistening formation in soft IOLs, XIII Congress of the European Society of Ophthalmology (2001.6.3-7 Istanbul)

中前勝彦，西野孝，加藤功一，福島一：両親媒性天然化合物を吸着させたカーボンブラックの水中分散性，第47回高分子研究発表会（2001.7.6 神戸）

中前勝彦，川口美香子，加藤功一：リン脂質含有高分子によるポリメタクリル酸メチル表面の改質，第4回眼科生体材料研究会（2001.9.21 金沢）

2) 講演・シンポジウム

岩田博夫：幹細胞工学 -- Tissue Engineering -- 再生医学，第1回東海再生医学研究会（2001.7.17 名古屋）

岩田博夫：再生医療と組織工学，第43回歯科基礎医学会学術大会（2001.9.21 埼玉）

岩田博夫：再生医療へ向かって -- ハイブリッド人工臓器の役割 -- ，第16回生体・生理工学シンポジウム

(2001.8.30 神奈川)

岩田博夫：再生医工学の展開とバイオ人工臓器，第45回有機デバイス研究会（2001.12.14 浜松）

加藤功一：コラーゲンを利用した人工細胞外マトリックスの設計：構造制御と機能発現，第50回高分子学会年次大会（2001.5.23-25 大阪）

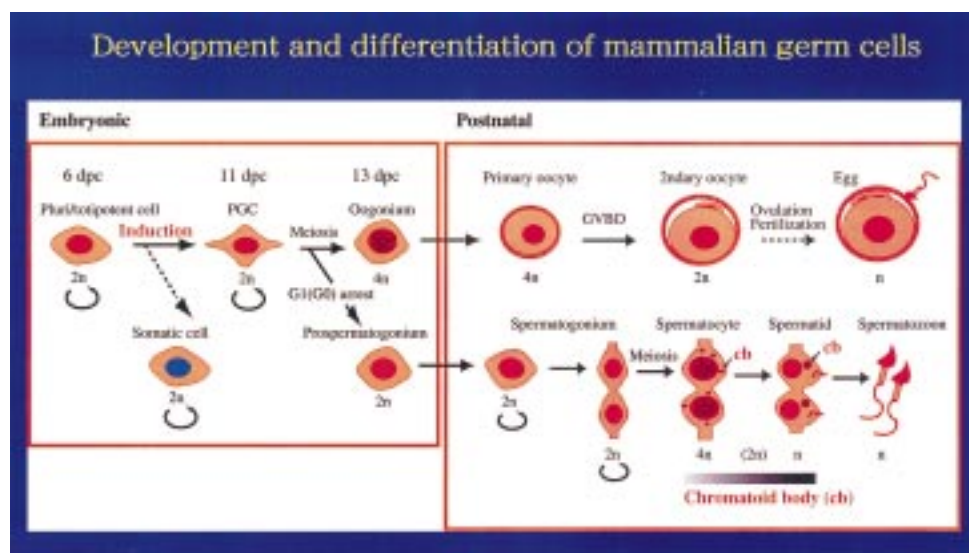
再生統御学研究部門

発生分化研究分野

Department of Development and Differentiation

【研究概要】

- (1) マウス生殖細胞の発生分化：哺乳類において生殖細胞の基になる始原生殖細胞は、多能性幹細胞から体細胞系列が分岐すると同時に出現し、細胞増殖を行いながら生殖巣へ移動するが、この時期までは多能性幹細胞と共通の性質を多く持ち、多能性幹細胞である EG 細胞への変換を起こすことが可能である。しかしながら生殖巣到着後は、最終的な生殖細胞への決定が起き、減数分裂への移行と卵母細胞の分化、または G0/G1 期への移行と精原細胞の分化が進行する。我々はこれまでに、始原生殖細胞の増殖制御と EG 細胞の出現、および減数分裂への移行制御に関する研究を行ってきた。これを基盤にして、生殖細胞への最終決定が起きたのち雌雄生殖細胞の分化が進行する時期に焦点を当て、細胞と遺伝子解析の2方向からのアプローチを進め、哺乳類生殖細胞の分化制御機構の解明を目指している。(1)雌雄生殖巣の性分化に従って複雑な発現パターンを示す bHLH 型転写因子 *pod-1/capsulin* について解析し、精巣分化にとって重要な *AD4BP/SF-1* の発現を抑制することを見いだした (Tamura et al., Mech. Dev. 2001)。(2)始原生殖細胞の減数分裂への移行と卵母細胞への分化を培養下で進行させる実験系を確立し、LIF および gp130シグナル系が減数分裂移行を強く抑制することを発見した (Chuma and Nakatsuji, Dev. Biol. 2001)。(3)胎仔生殖細胞では大規模な細胞死が起きるが、アポトーシス抑制機能をもつ *bcl-x* 遺伝子欠損ヘテロマウスにおいて、雄性特異的に生殖細胞の大規模なアポトーシスが起きていることを発見し解析を進めている (Kasai et al., unpublished)。(4)ショウジョウバエにおいて生殖細胞の発生に重要な役割を果たしている *tudor* 遺伝子に関連する遺伝子を哺乳類で始めて同定して解析を行っている (Chuma et al, unpublished)。これまでに、*Mtr1* 遺伝子の発現は前精原細胞と精子形成細胞に特異的であること、蛋白質は生殖系列に関係する



哺乳類における生殖系列細胞の発生分化のプロセス

生殖細胞の基になる始原生殖細胞は、多能性幹細胞から体細胞系列が分岐すると同時に出現し、細胞増殖を行いながら生殖巣へ移動するが、この時期までは多能性幹細胞と共通の性質を多く持ち、多能性幹細胞である EG 細胞への変換を起こすことが可能である。しかしながら生殖巣到着後は、最終的な雌雄生殖細胞への決定が起き、卵巣中では減数分裂への移行と卵母細胞の分化そして卵子形成、あるいは雄では G0/G1 期への移行と精原細胞の分化そして精巣における精子形成へと進行する。

nuage 構造の一種である chromatoid body に局在することを明らかにした。

- (2) 胚性幹 (ES) 細胞株の樹立と分化制御：霊長類 ES 細胞にはマウス ES 細胞と異なる性質があり，未分化幹細胞を安定に増殖維持する方法の確立が不可欠である。我々が樹立したカニクイザル ES 細胞は，他の霊長類 ES 細胞と同様な幹細胞マーカーを発現しており，免疫不全マウスへの移植によってテラトーマを形成した。その中には神経組織や軟骨・骨・毛包などが分化しており，広範な多分化能を持つことが明らかとなった。また培養方法の改良によって，長期間安定して幹細胞コロニーを増殖させることが可能になった。
- (3) 神経細胞の発生・分化を制御する分子機構：哺乳類の神経系には多種多様な神経細胞が存在し，これらの神経細胞の発生は HLH 型転写因子で制御される。我々は，HLH 型転写因子の上下流で機能する MBH や PHD ファミリー等の転写因子の同定と機能解析を進めている。また，高効率でマウス胎仔脳へ遺伝子導入できる新しい実験系を確立し，神経分化の様子を詳細に解析するとともに，個体内での遺伝子の機能解析に極めて有用であることを示した。神経細胞の多様性がどの様に形成されるのかを分子レベルで解明するため，これらの遺伝子群の転写制御や機能の解析を細胞と個体の両レベルで進めている。
- (4) 胚性幹細胞による体細胞ゲノムの再プログラム化：ES 細胞の未分化能維持活性に注目し，あらたにエビジェネティックエンジニアリングへの応用を試みた。体細胞の胸腺細胞を ES 細胞と細胞融合すると，体細胞ゲノムのエビジェネティクスが ES 細胞様に再プログラム化され，多分化能を獲得することを以下の観点から明らかにした。不活性 X 染色体の再活性化；雌未分化細胞では 2 本の X 染色体が活性なのに対し，体細胞では 1 本の X 染色体が不活性化しており，分化・未分化の指標に挙げられる。ES 融合細胞では，雌体細胞の不活性 X 染色体の再活性化が明らかになった。*Oct4* 遺伝子の再活性化；未分化細胞に特異的に発現する *Oct4* 遺伝子プロモーターによって制御される *GFP* 遺伝子をもつトランスジェニックマウスの体細胞と ES 細胞を融合したところ，体細胞では発現が抑制されていた GFP が，ES 融合細胞では融合後再活性化された。ES 融合細胞の分化能；ES 融合細胞の免疫不全マウスへの皮下注射によるテラトーマの形成から多分化能が示された。またキメラ胚を作製したところ内・中・外胚葉に分化できた。ES 融合細胞でのゲノムインプリンティング；体細胞で確立されたインプリンティング情報は ES 融合細胞中でも維持されていた。従って，再プログラム化の機構解明と再生医療への応用に関して，ES 細胞融合実験系の貢献が期待される。

(1) *Development and differentiation of mammalian germ cells and gonads.* Mouse primordial germ cells (PGCs) enter into the prophase of the first meiotic division in the ovary to become oocytes, while those in the testis become mitotically arrested to become prospermatogonia. When cultured on feeder cells, they show a limited period of proliferation in vitro and go into the growth arrest. In the presence of multiple growth signals, however, PGCs can restart rapid proliferation and transform into the pluripotent embryonic germ (EG) cells. We developed a two-dimensional culture system in which we examined transition from the mitotic PGCs into the leptotene stage of the first meiotic division by using the meiosis-specific markers, Scp3 and Dmc1. Such entry into meiosis seems to be programmed in PGCs before reaching the genital ridges and unless inhibited by putative signals from the testicular somatic cells. In such culture system, addition of the leukemia inhibitory factor (LIF) and related ligands caused a strong suppression of the Scp3 expression and meiotic entry by PGCs, indicating that the gp130-mediated signaling may be involved in such inhibition.

Also, we are investigating several genes that may be involved in the differentiation of germ cells. Firstly, *testatin/cresp*, which is related to type II cysteine proteinase inhibitors belonging to the cystatin family, shows exclusive

expression by somatic and germ cells in the testis from the early stages of sex-differentiation. We produced transgenic mice expressing *testatin/cresp* in the ovary, but they showed no apparent phenotype (Hasegawa et al., unpublished). Another gene is the first mammalian *tudor*-related gene. We have identified a *mouse tudor repeat (Mtr)* gene, which encodes four repeats of the tudor domain (Chuma et al., unpublished). *Mtr* expression was restricted to germ-line cells; the transcript was most abundant in spermatocytes in adult testes, and next abundant was in prospermatogonia in fetal testes. The MTR protein in spermatocytes and round spermatids showed granular distribution in the cytoplasm, and they were localized at both the inter-mitochondrial spaces and perinuclear chromatoid bodies containing cytoplasmic RNP. MTR may play an important role in assembling RNP at the chromatoid bodies, of which function during spermatogenesis is still unknown.

(2) *Establishment and characterization of primate embryonic stem cell lines.* Nonhuman primate ES cell lines provide important research tools for basic and applicative research. We have established ES cell lines from cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*), using blastocysts produced by in vitro fertilization (IVF) and intracytoplasmic sperm injection (ICSI). These cell lines express alkaline phosphatase activity and stage-specific embryonic antigen (SSEA)-4. Their pluripotency was confirmed by the formation of embryoid bodies and differentiation into various cell types in culture and also by the formation of teratomas that contained many types of differentiated tissues including derivatives of three germ layers after transplantation into immuno-deficient SCID mice. With various improvements in culture methods, it has become possible to maintain stable colonies of monkey ES cells using a serum-free medium and subculturing with trypsin treatment. Under such conditions, monkey ES cell lines can be maintained in an undifferentiated state with a normal karyotype and pluripotency even after prolonged periods of culture over one year. Such progress should facilitate many aspects of stem cell research using both nonhuman primate and human ES cell lines.

(3) *Molecular mechanisms to control neural development and neuronal differentiation.* The mammalian nervous system comprises an enormous number of cell types. We have been trying several approaches at the both cellular and molecular levels to understand how the different cell types are generated. bHLH transcription factors, such as *Mash1* and *Neurogenin* have been established to play important roles in mammalian neurogenesis and we are focusing on their transcriptional cascades. PHD genes, such as *PHD1* and *DRG11* are expressed downstream of *Mash1* and *Neurogenin2*, respectively. A homeobox gene, *MBH1*, is expressed in a complementary pattern to *Mash1* and overlapping with *Neurogenin2* in the developing diencephalon. Forced expression of *MBH1* downregulates *Mash1* expression and upregulates *Neurogenin2*, suggesting that *MBH1* is a regulator of the bHLH genes. We have also established a novel method to introduce DNA into mouse embryonic brains efficiently using electroporation. In order to clarify the relation between *MBH1* and bHLH genes and between bHLH and PHD genes, we are analyzing transcription regulatory sequences of the genes and their function in cultured cells and mouse embryos.

(4) *Nuclear reprogramming of somatic cells by hybridization with embryonic stem cells.* We used ES cells for epigenetic engineering. Epigenotype of somatic nuclei was reprogrammed as similar to that of ES cells by *in vitro* hybridization between ES and somatic cells (ES hybrid cells). This epigenetic reprogramming was manifested by the following aspects: X-chromosome reactivation in ES hybrid cells; X-chromosome inactivation is tightly coupled to cellular differentiation, and thus, two X chromosomes are active in a pluripotential stem cell, whereas an X chromosome is inactivated in a somatic cell. An X chromosome inactivated in a female somatic cell was reactivated in

ES hybrid cells. Reactivation of the *Oct4* gene ; *Oct4* is expressed only from nuclei carrying pluripotential competence such as germ cells and early embryonic cells. In somatic cells collected from the *Oct4-GFP* transgenic mice, GFP was completely repressed. However, in ES hybrid cells, reactivation of *Oct4-GFP* derived from somatic cells was detected after cell hybridization. Pluripotential competence of ES hybrid cells ; ES hybrid cells differentiated to a variety of tissues and formed teratocarcinomas by subcutaneous injection into immuno-deficient mice. Furthermore, ES hybrid cells were capable of contributing to the three primary germ layers of E7.5chimeric embryos made by microinjection into blastocysts. Genomic imprinting in ES hybrid cells ; No change of allele-specific DNA methylation in somatic nuclei was found after hybridization with ES cells. Thus, ES hybrid cell system could contribute to understand molecular mechanism of nuclear reprogramming and also to the application to regenerative medicine.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

- Chuma, S. and Nakatsuji, N. : Autonomous transition into meiosis of mouse fetal germ cells in vitro and its inhibition by gp 130-mediated signaling. *Devel. Biol.*, **229** : 468-479 (2001).
- Tamura, M., Kanno, Y., Chuma, S., Saito, T. & Nakatsuji, N. : Pod-1/Capsulin shows a sex-and stage-dependent expression pattern in the mouse gonad development and represses expression of *Ad4BP/SF-1*. *Mech. Devel.*, **102** : 135-144 (2001).
- Suemori, H., Tada, T., Torii, R., Hosoi, Y., Kobayashi, K., Imahie, H., Kondo, Y., Iritani, A. & Nakatsuji, N. : Establishment of embryonic stem cell lines from cynomolgus monkey blastocysts produced by IVF or ICSI. *Dev. Dynamics*, **222** : 273-279 (2001).
- Tada, M., Takahama, Y., Abe, K., Nakatsuji, N. & Tada, T. Nuclear reprogramming of somatic cells by in vitro hybridization with ES cells. *Curr. Biol.*, **11** : 1553-1558(2001).
- Saito, T. and Nakatsuji, N. : Efficient gene transfer into the embryonic mouse brain using in vivo electroporation. *Dev. Biol.* **240** : 237-246(2001).
- Saito, T., Kamimoto, M., Miyake, A., Yamaha, E., Suzuki, T., Nakatsuji, N. & Nakatsuji, T. : Mesoderm formation by isolated and cultivated 8-cell stage blastomeres of the teleost, *Leucopsarion pterisii* (shiro-uo). *Int. J. Dev. Biol.* **45** : 661-668(2001).
- Matsumoto, K., Takayama, N., Ohnishi, J., Ohnishi, E., Shirayoshi, Y., Nakatsuji, N. & Ariga, H. : Tumor invasion and metastasis are promoted in mice deficient in tenascin-X. *Genes Cells*, **6** : 1101-1111(2001).

2) 著書

- Nakatsuji, N. : Primate and mouse embryonic stem cells for biomedical research. In "Tissue Engineering for Therapeutic Use 5," (Ikada, Y. and Ohshima, N., eds.), Elsevier. 1-10(2001).
- Tada, T., Tada, M. & Surani, M.A. : Plasticity of somatic nucleus by epigenetic reprogramming via cell hybridization. In "Principles of Cloning", Cibelli, J.B., Lanza, R., Campbell, K. & West, M.D. (eds.) Academic Press, USA, (in press).

中馬新一郎：始原生殖細胞の培養と減数分裂への移行。「幹細胞クローン研究プロトコル」(中辻憲夫編)。羊土社 (東京) 33-41 (2001)。

多田政子, 多田 高：多能性幹細胞の再プログラム化活性。「幹細胞クローン研究プロトコル」(中辻憲夫編), 羊土社 (東京) 191-198 (2001)。

3) 総 説

Nakatsuji, N. and Chuma, S. : Differentiation of mouse primordial germ cells into female or male germ cells. *Int. J. Dev. Biol.*, **45** : 541-548(2001).

Tada, T. and Tada, M. : Toti-/pluripotential stem cells and epigenetic modifications. *Cell Struct. Funct.* **26** : 145-156 (2001).

中辻憲夫：ヒト胚性幹細胞と再生医学。最新医学 56 : 85-91 (2001)。

中辻憲夫：多能性幹細胞と再生医学。細胞工学 20 : 942-945 (2001)。

中辻憲夫：細胞の再プログラム化と万能性。実験医学 19 : 484-486 (2001)。

中辻憲夫：発生生物学から再生医学へ。治療学 35 : 1032-1034 (2001)。

中辻憲夫：霊長類の胚性幹細胞。ゲノム医学 1, 301-305 (2001)。

多田政子, 多田 高：胚性幹細胞がもつゲノム再プログラム化機構。実験医学, 19 : 1511-1517 (2001)。

◆ 学会等の発表 ◆

1) 学会・研究会発表

Suemori, H., Taka, T., Torii, R., Hosoi, Y., Kondo, Y., Imahie, H., Kobayashi, K., Suzuki, Y., Iritani, A. & Nakatsuji, N. : Establishment of embryonic stem cell lines from blastocysts of the cynomolgus monkey. 14th International Congress of Developmental Biology (2001.7.8-12 Kyoto, Japan)

Chuma, S., Hiyoshi, M., Takamune, K. & Nakatsuji, N. : Isolation of a novel *mouse tudor repeat* (mtr) gene expressed in germ-line cells. 14th International Congress of Developmental Biology (2001.7.8-12 Kyoto)

Kasai, S., Chuma, S., Motoyama, N. and Nakatsuji, N. : Functional requirement of bcl-x for murine male germ cell development. 14th International Congress of Developmental Biology (2001.7.8-12 Kyoto)

Tamura, M. and Nakatsuji, N. : Pod-1/Capsulin shows a sex-and stage-dependent expression pattern in the mouse gonad development and represses expression of Ad4BP/SF-1. 14th International Congress of Developmental Biology (2001.7.8-12 Kyoto)

Saito, T., Saba, R., Hama, T., Kutsuna, J. and Nakatsuji, N. : Mammalian Bar-class homeobox genes and their function. 14th International Congress of Developmental Biology, (2001.7.11 Kyoto)

Tada, M., Hatano, S., Nakatsuji, N. & Tada, T. : Nuclear reprogramming of somatic cells by in vitro hybridization with ES cells. 14th International Congress of Developmental Biology (2001.7.8-12 Kyoto)

Saito, T., Kamimoto, M., Miyake, A., Yamaha, E., Suzuki, T., Nakatsuji, N. & Nakatsuji, T. : Mesoderm formation by isolated and cultivated 8-cell stage blastomeres of the teleost, *Leucopsarion ptersii* (shiro-uo). 14th International Congress of Developmental Biology (2001.7.8-12 Kyoto)

Kamimoto, M., Suzuki, T., Ito, M., Nakatsuji, N. & Nakatsuji, T. Shiro-uo (*Leucopsarion ptersii*) *otx* gene sequence and

their expression during embryogenesis. 14th International Congress of Developmental Biology (2001.7.8-12 Kyoto)

Kimura, T., Suzuki, A., Kato, Y., Yomogida, K., Lomeli, H., Chuma, S., Mak, T. W., Nakatsuji, N., Anagy, A. & Nakano, T. : Role of PTEN in the establishment of male germ lineage. 14th International Congress of Developmental Biology (2001.7.8-12 Kyoto)

Saito, T., Saba, R., Kutsuna, J. & Nakatsuji, N. : Efficient gene transfer into mouse embryonic brains and functional analysis of genes using in vivo electroporation. Society for Neuroscience 31th annual meeting, (2001.11.13 San Diego)

Tada, T. : Nuclear reprogramming of somatic cells by *in vitro* hybridization with ES cells. International Gordon Research Conferences "Epigenetics" (2001.8.12-17 Holderness School, Plymouth, NH. USA)

中辻憲夫：豊長類 ES 細胞株の樹立と分化制御による再生医療の展望．日本解剖学会第106回全国学術集会（2001 4 3 南国市）

中辻憲夫，中村光彰，長谷川光一：精巢への遺伝子導入と顕微授精によるトランスジェニックマウスの作出．日本分子生物学会第24回年会（2001 .12 .12 横浜）

Chuma, S., Hiyoshi, M., Yamamoto, A., Takamune, K. & Nakatsuji, N. *Mouse tudor repeat (Mtr)* gene expressed in germ-line cells encodes a novel component of chromatoid bodies, cytoplasmic RNP-rich granules in testicular germ cells . 日本分子生物学会第24回年会（2001 .12 9 横浜）

長谷川光一，中辻憲夫：インシュレーターによる二つの転写制御領域の独立した発現制御．日本分子生物学会第24回年会（2001 .12 .12 横浜）

Kamimoto, M., Suzuki, T., Miyake, A., Ito, M., Nakatsuji, N. & Nakatsuji, T. : Shiro-uo (*Leucopsariion petersii*) *otx* gene sequences and their expression during embryogenesis. 日本分子生物学会第24回年会（2001 .12 .11 横浜）

Miyake, A., Yamamoto, A., Saito, T., Kamimoto, M., Suzuki, T., Nakatsuji, N. & Nakatsuji, T. : The vasa mRNA expression and localization during embryogenesis of the shiro-uo (*Leucopsariion petersii*) . 日本分子生物学会第24回年会（2001 .12 .12 横浜）

佐藤優子，三品祐司，三好一郎，中辻憲夫，西森克彦：マウス生殖腺における ALK 3 遺伝子機能の解析．日本分子生物学会第24回年会（2001 .12 .12 横浜）

佐波理恵，浜太郎，中辻憲夫，斎藤哲一郎：Mammalian BarH Homologue (MBH) 1 の発現制御機構，日本分子生物学会第24回年会（2001 .12 .10 横浜）

小野隆之，佐藤純，斎藤哲一郎，西郷薫：ショウジョウバエ homeobox 遺伝子対 BarH1/BarH2 とその異種ホモログ間における機能保存性とその解析，日本分子生物学会第24回年会（2001 .12 .12 横浜）

多田 高：ES 細胞を用いた体細胞核の再プログラム化．哺乳動物遺伝学研究会（2001 .10 .12-13 熊本）

木村博信，多田政子，中尾光善，中辻憲夫，多田 高：低メチル化細胞における DNA のメチル化関連因子の発現．日本分子生物学会第24回年会（2001 .12 9-12 横浜）

三宅顕三，紙本幹子，斎藤大樹，山本章嗣，鈴木徹，中辻憲夫，中辻孝子：シロウオ胚発生過程における vasa mRNA 発現と局在性．第 7 回小型魚類研究会（2001 8 4- 5 三島）

2) 講演・シンポジウム

Nakatsuji, N. : Developmental study and manipulation of mammalian germ cells and embryonic stem cells.

International Workshop “Current Status and Perspectives in Cloning and Related Studies” (2001.10.15-18 Tsukuba)

Nakatsuji, N. : Embryonic stem cells, germ cells and regenerative medicine. Japan Day at the Royal Society (2001.11.7 London, UK)

Nakatsuji, N., Chuma, S. & Hasegawa, K. : Differentiation of mouse primordial germ cells into female or male germ cells. International Symposium “Development and Epigenetics of Mammalian Germ Cells and Pluripotent Stem Cells” (2001.11.19-21 Kyoto)

Nakatsuji, N. : Development and differentiation of the mammalian germ cell lineage ; mouse ES cells and germ cells. The 3rd Japan-Taiwan Symposium on Stem Cell and Tissue Engineering (2001.12.21 Taipei)

Nakatsuji, N. : Establishment of ES cell lines and regenerative medicine. The 3rd Japan-Taiwan Symposium on Stem Cell and Tissue Engineering (2001.12.21 Taipei)

Saito, T. : Transcriptional cascades to regulate neuronal differentiation.9th International Catecholamine Symposium, (2001.4.3 Kyoto)

Tada, M., Nakatsuji, N. & Tada, T. : Nuclear reprogramming of somatic cells by in vitro hybridization with ES cells. International Symposium “Development and Epigenetics of Mammalian Germ Cells and Pluripotent Stem Cells” (2001.11.19-21 Kyoto)

Tada, M., Nakatsuji, N. & Tada, T. : Plasticity of somatic nucleus by epigenetic reprogramming via cell hybridisation. International Symposium “Development and Epigenetics of Mammalian Germ Cells and Pluripotent Stem Cells” (2001.11.19-21 Kyoto)

中辻憲夫：マウス胎仔生殖腺の発生分化に関わる遺伝子群．大阪大学微生物病研究所公開シンポジウム「生殖細胞分化と関連遺伝子の働き」(2001 3 9 吹田市)

中辻憲夫：マウス胎仔の生殖細胞と生殖巣の発生分化に関する細胞と遺伝子解析．基礎生物学研究所シンポジウム (2001 3 .16-17 岡崎市)

中辻憲夫：霊長類 ES 細胞株の樹立と再生医学．京都大学再生医科学研究所学術講演会 (2001 3 21 京都)

中辻憲夫：胚性幹 (ES) 細胞と再生医療の展望 .第120回日本不妊学会関西支部集談会における特別講演 (2001 3 .24 大阪)

中辻憲夫：ES 細胞と生殖細胞の発生工学と再生医学．日本実験動物科学技術大会における特別講演 (2001 5 .11 横浜)

中辻憲夫：多能性幹細胞 (ES 細胞) と生殖系列細胞の発生分化と再生医学．金沢大学十全医学会総会・学術集会における特別講演 (2001 6 2 金沢)

中辻憲夫：胚性幹細胞 (ES 細胞) と再生医学．第 1 回東海再生医学研究会における特別講演 (2001 7 .17 名古屋)

中辻憲夫：ES 細胞・生殖細胞系列と再生医学．第13回高遠・分子細胞生物学シンポジウム (2001 8 23 高遠町, 長野)

中辻憲夫：胚性幹細胞 (ES 細胞) 株の樹立と分化制御および再生医療への展望．日本組織培養学会第74回大会における特別講演 (2001 8 31 つくば市)

中辻憲夫：ES 細胞株と再生医学．第43回日本消化器病学会大会における招聘講演 (2001 .10 .18 京都)

中辻憲夫：変幻自在な幹細胞と新しい医療をめざす再生医学．京都大学春秋講義 (2001 .11 5 京都)

中辻憲夫：多能性幹細胞 (ES/EG 細胞) 株の樹立と再生医学．平成13年度細胞生物学シンポジウム (2001 .11 .16

吹田市)

多田 高, 多田政子, 中辻憲夫: 幹細胞のエピジェネティクスと発生異常. 第41回日本先天異常学会シンポジウム
「幹細胞・再プログラム化と形態形成・発生異常」(2001.7.3-5 横浜)

多田 高, 多田政子, 中辻憲夫: 多能性幹細胞の再プログラム化能. 第24回日本分子生物学会シンポジウム「細胞
と再プログラム化と再生工学」(2001.12.9-12 横浜)

再生誘導研究分野

Department of Medical Embryology
and Neurobiology

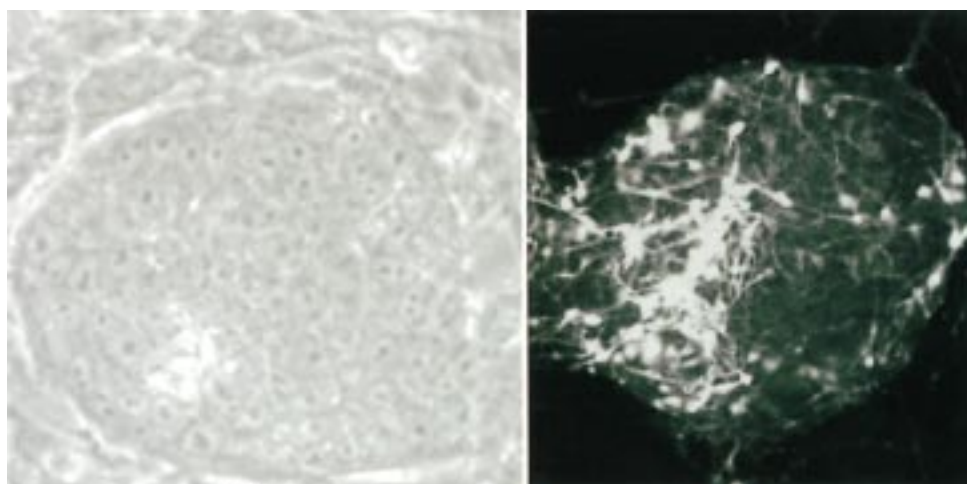
【研究概要】

本研究室では哺乳類を含めた脊椎動物の初期発生, 特に神経系の発生制御の分子機構を中心に研究を進めている。さらにその知見をもとに試験管内での神経分化系を確立し, 再生医学応用への基盤を確立する。笹井は以前に75年前ハンス・シュペーマンが予言した神経誘導因子 Chordin をアフリカツメガエルを用いて単離し, その機能を解析してきた。Chordin は新規の分泌因子で未分化外胚葉に作用すると, これを神経組織に分化誘導する活性を有する。Chordin のショウジョウバエの相同遺伝子 Sog もハエの神経形成の制御因子であることが判明し, 広く動物界でこの因子が神経分化の上流制御因子として働いていることが明らかとなった。現在の主たるプロジェクトは,

- (1) 未分化外胚葉細胞から神経への分化制御機構
- (2) ニューロンの多様性と領域化獲得の分子基盤
- (3) マウス ES (胚性幹) 細胞からの試験管内神経分化系の確立

である。

(1)については主として長い研究の歴史があり分子解析が最も進んでいるアフリカツメガエルを用いて解析した。過去3年間に Chordin によって細胞内に活性化される下流遺伝子の系統的スクリーニングを行い, 複数の興味深



未分化な状態の ES 細胞のコロニー

SDIA 法で分化させた ES 細胞コロニー内のドーパミン神経細胞

い遺伝子を同定した。そのうち3つの転写因子は神経予定領域にごく初期より発現しており、Chordin の神経誘導活性を媒介する中枢神経形成因子として考えられた。さらに最近神経堤細胞分化の初発段階を制御する因子として FOXD3 を同定した。FOXD3 は未分化外胚葉から神経堤細胞の分化に必要な十分な活性をしめす転写因子であることが明らかとなった。(2)については、神経系のパターン形成に関与する分泌因子をシグナル・ペプチド・セレクション法を用いて、系統的に単離した。そのうち新規の分泌因子 Kielin は中枢神経系の背腹軸決定の中心である底板に発現しており、現在神経パターン形成での役割を検討中である。(3)マウス ES 細胞から試験管内で神経前駆細胞やニューロンを分化させる系を確立した。ES 細胞を BMP 4 非存在下に PA 6 等のストローマ細胞と無血清培地で共培養すると、ほぼ選択的に神経前駆細胞に分化することを明らかにした。これはストローマ細胞の細胞表面に存在する誘導活性によることが照明され、ストローマ由来誘導活性 (SDIA) と名付けられた。SDIA 法で分化誘導されたニューロンは効率でドーパミンを産生することも明らかとなり、パーキンソン病への細胞移植への利用の可能性が示唆された。現在、サルの ES 細胞から同様の分化誘導が得られるかを検討し、脳外科との共同で移植実験を行っている。

また、細川グループは遺伝的老化促進マウス SAM を用いて、遺伝学的、病理学的、及び生化学的研究を進めている。骨、関節、神経をはじめとする生体老化のモデルとして、解析を進めている。

Department of Medical Embryology & Neurobiology focuses on molecular mechanisms underlying early vertebrate development, especially development of nervous systems. We are also aiming at medical application of in vitro differentiation of neurons.

Before Sasai started his lab in this institute, he had isolated a neural inducer, Chordin, which had been predicted by the Nobel Prize winner Hans Spemann. Chordin, a novel secreted factor, can induce neural tissues from immature ectoderm, which otherwise gives rise to epidermis. Interestingly, the *Drosophila* homologue of Chordin, sog, turned out to be an upstream regulator of neurogenesis in fly, suggesting that Chordin is used ubiquitously for neural regulator in the animal kingdom.

Our current projects are as follows :

- (1) Molecular control of neural differentiation from uncommitted ectoderm.
- (2) Molecular basis for diversity of neurons.
- (3) in vitro differentiation of ES cells into neural tissues.

(1)By using the Xenopus system, we have systematically searched for downstream genes of the neural inducer Chordin. We have isolated three early neural-specific transcription factors which functions in the downstream cascade of neural induction. Recently, we have isolated a transcription factor that positively regulates the initial step of neural crest differentiation. This factor FoxD3 is a sufficient and essential regulator of neural crest differentiation from embryonic ectoderm. (2)We systematically screened for genes involved in cell-cell interactions during early neural patterning by using the Signal-Peptide-Selection method. One gene from this screen is a new secreted patterning factor Kielin. During early neurogenesis, Kielin is expressed in the floor plate, which plays a central role in the dorsal-ventral patterning of the developing brain. Roles of Kielin in the CNS are now being investigated. (3)We have established an efficient system to induce neural differentiation of mouse ES cells in vitro. We have screened for activities that promote neural differentiation of ES cells and finally discovered such an activity on several stromal cells. We named this activity SDIA (stromal cell,-derived inducing activity).. By using this system, we could induce differentiation of specific types of neurons such as dopaminergic neurons. Production of dopamine neurons may open door to cell transplantation of

Parkinson disease. We are currently exploring this possibility by using primate ES cells.

Dr. Hosokawa's group investigates mechanisms of aging by using hereditary early aging mouse, SAM. As a model for age-associated changes, extensive analyses of genetical, pathological and biochemical aspects were performed on SAM.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

- Kawasaki, H., Suemori, H., Mizuseki, K., Watanabe, K., Urano, F., Ichinose, H., Haruta, M., Takahashi, M., Yoshikawa, K., Nishikawa, S., Nakatsuji, N. & Sasai, Y.: Generation of Dopaminergic Neurons and Pigmented Epithelia from Primate ES cells by SDIA. *PNAS* (in press)
- Sasai, N., Mizuseki, K., Nagata, K. & Sasai, Y.: Requirement of FoxD3-class Signaling for Neural Crest Determination in *Xenopus*. *Development* **128** 2525-2536 (2001)
- Zhu, B.H., Ueno, M., Matsushita, T., Fujisawa, H., Seriu, N., Nishikawa, T., Nishimura, Y., Hosokawa, M.: Effects of Aging and Blood Pressure on the Structure of the Thoracic Aorta in SAM Mice: A Model of Age-associated Degenerative Vascular Changes, *Exp. Gerontol* **36** 111-124 (2001).
- Ueno, M., Sakamoto, H., Kanenishi, K., Onodera, M., Akiguchi, I., Hosokawa, M.: Ultrastructural and permeability features of microvessels in the perivascular area of Senescence-accelerated mice (SAM). *Microsc. Res. Tech.* **53** 232-238 (2001).
- Ueno, M., Sakamoto, H., Kanenishi, K., Onodera, M., Akiguchi, I., Hosokawa, M.: Ultrastructural and permeability features of microvessels in the hippocampus, cerebellum and pons of Senescence-accelerated mice (SAM). *Neurobiol. Aging* **22** 469-478 (2001).
- Ohta, A., Akiguchi, I., Seriu, N., Ohnishi, K., Yagi, H., Higuchi, K., M. Hosokawa.: Deterioration in learning and memory of fear conditioning in response to context in aged SAMP8 mice. *Neurobiol. Aging* **22** 479-484 (2001).
- Ohta, A., Akiguchi, I., Seriu, N., Ohnishi, K., Yagi, H., Higuchi, K., Hosokawa, M.: Senescence-accelerated mouse (SAM) model deteriorated in transitive inference. *Hippocampus*, (in press)
- Mori, M., Toyokuni, S., Kondo, S., Kasai, H., Naiki, H., Toichi, E., Hosokawa, M., Higuchi, K. Spontaneous loss-of-function mutations of the 8-oxoguanine DNA glycosylase gene in mice and exploration of the possible implication of the gene in senescence. *Free Radical Biol. Med.* **30** 1130-1136 (2001).
- Xing, Y., Nakamura, A., Chiba, T., Kogishi, K., Matsushita, T., Li, F., Guo, Z., Hosokawa, M., Mori, M., Higuchi, K.: Transmission of mouse senile amyloidosis. *Lab. Invest.* **81** 493-499 (2001).
- Shimizu, M., Higuchi, K., Tsuboyama, T., Matsushita, M., Kasai, S., Mori, M., Shimizu, Y., Nakamura, T., Hosokawa, M.: Chromosome13 locus, Pbd2, regulates bone density in mice. *J. Bone Mineral Res.* **16** 1972-1982 (2001).
- Carp, R.I., Meeker, H.C., Chung, R., Kozak, C.A., Hosokawa, M., Fujisawa, H.: Murine leukemia virus in organs of senescence-prone and-resistant mouse strains. *Mech. Ageing Dev.* (in press)

2) 総説, 著書

Kawasaki, H., Mizuseki, K. & Sasai, Y. Selective neural induction from ES cells by stromal cell-derived inducing activity and its possible application to parkinsonian therapy. (ed. Kursad Turksen) Methods in Molecular Biology, (Humana Press, Totowa, NJ) 185 217-228 (2001)

細川昌則：創薬段階での非臨床評価，第6節モデル動物の利用と評価－老化－，(野村 護，堀井郁夫，吉田武美 編)「非臨床試験マニュアル」(エル・アイ・シー，東京) pp 397-406 (2001)。

◆ 学会等の講演 ◆

1) 学会・研究会発表

Sasai Y.: Induction of in vitro neural differentiation and production of dopaminergic neurons from mouse ES cells.9th International Catecholamine Symposium (2001.4.5, Kyoto)

Sasai Y. Molecular Regulation of specification of Xenopus Neuroectoderm and Neural Crest. Juan March Workshop 2001 (2001.6.18. Madrid)

笹井芳樹 神経系の再生医学の現状と将来，第1回心血管再生・アポトーシス フォーラム (2001.6.9 東京)

笹井芳樹 神経堤細胞の初期分化制御の分子機構，2001年神経科学学会年会シンポジウム (2001.9.27 京都)

笹井芳樹 試験管内での中枢神経系の再構築にむけて：基礎研究と再生医療の開発 第48回千里神経懇話会 (2001.10.23 豊中)

笹井芳樹 試験管内でのドパミン神経産生とその応用 第10回パーキンソン病治療研究会 (2001.10.27 東京)

笹井芳樹 パーキンソン病に対する神経移植療法：ES細胞を用いた新しいアプローチ 第1回千葉神経難病研究会 (2001.11.15 千葉)

笹井芳樹 ES細胞を用いた新しい再生医療へのアプローチ Kyowa Lung Cancer Symposium 2001 (2001.12.1 東京)

Hosokawa M.: General and Specific Areas of Interest on the Development of Animal Models for Aging Research, Workshops in the 5th Annual Meeting of International Biogerontology Resources Institute (2001.5.3. Cividale)

細川昌則，上野正樹，千葉陽一，松下隆寿，小岸久美子，池田容子：SAM マウスに関する実験的研究121 胸部大動脈構造に及ぼす加齢と血圧の影響，第90回日本病理学会総会 (2001.4.5 東京)

細川昌則，上野正樹，千葉陽一，藤澤裕美，松下隆寿，池田容子，松田園子，渡辺知子：老化促進モデルマウス(SAM)における胸部大動脈構造の加齢変化II，日本基礎老化学会第24回大会 (2001.6.13 大阪)

細川昌則，祝 炳華，上野正樹，松下隆寿，西村泰光，千葉陽一，藤澤裕美，松田園子，池田容子：SAM 系統マウスの胸部大動脈構造におよぼす加齢と血圧の影響，第17回老化促進モデルマウス(SAM)研究協議会研究発表会 (2001.7.12 京都)

清水基行，坪山直生，松下 睦，笠井宗一郎，松村拓郎，中村孝志，細川昌則，樋口京一：老化促進モデルマウス SAM を用いた第11染色体骨量制御遺伝子座の解析，第46回関西カルシウム懇話会 (2001.4.7 大阪)

清水基行，樋口京一，中村孝志，坪山直生，松下 睦，笠井宗一郎，森 政之，細川昌則：SAM マウスに関する実験的研究120 第11及び13染色体骨量制御遺伝子座の解析，第90回日本病理学会総会 (2001.4.5 東京)

清水基行，樋口京一，坪山直生，松下 睦，笠井宗一郎，松村拓郎，奥平修三，中村孝志，細川昌則：SAM を用いた第11及び第13染色体骨量制御遺伝子座の解析，第17回老化促進モデルマウス(SAM)研究協議会研究

発表会 (2001.7.13 京都)

西村泰光, 細川友秀, 馬場満男, 細野正道, 細川昌則: SAM マウスに関する実験的研究119 SAMP 1 マウス脾臓由来 CD4⁺T 細胞の早期増殖の終息, 第90回日本病理学会総会 (2001.4.5 東京)

西村泰光, 細川友秀, 馬場満男, 細野正道, 小岸久美子, 細川昌則: 老化促進モデルマウス, SAMP 1 マウスの脾臓 CD4⁺T 細胞における増殖の早期終息と低い IL-2 産生能, 日本基礎老化学会第24回大会 (2001.6.14 大阪)

西村泰光, 細川友秀, 馬場満男, 細野正道, 細川昌則: 老化促進モデルマウス, SAMP 1 マウスの脾臓 CD4⁺T 細胞における低い IL-2 産生能とこれに起因する増殖の早期終息と細胞死の増加, 第31回日本免疫学会学術集会 (2001.12.13 大阪)

千葉陽一, 上野正樹, 西村泰光, 小岸久美子, 藤澤裕美, 秋口一郎, 坂本晴彦, 山下剛徳, 細川昌則: SAM11 マウス新生仔皮膚由来培養線維芽細胞にみられるミトコンドリア機能障害と高酸化的ストレス状態, 第17回老化促進モデルマウス (SAM) 研究協議会研究発表会 (2001.7.13 京都)

千葉陽一, 上野正樹, 松下隆寿, 西村泰光, 小岸久美子, 藤澤裕美, 秋口一郎, 坂本晴彦, 細川昌則: 老化促進モデルマウス (SAM) 由来培養線維芽細胞におけるミトコンドリア機能障害と高酸化的ストレス状態, 第33回日本臨床電子顕微鏡学会学術講演会 (2001.9.27 長崎)

是永龍巳, 森 政之, 付 麗, 松下隆寿, 細川昌則, 樋口京一: ApoA 2 a allele を持つマウスのアミロイド沈着とその誘導, 第90回日本病理学会総会 (2001.4.5 東京)

是永龍巳, 森 政之, 付 麗, 松下隆寿, 細川昌則, 樋口京一: ApoA 2 a allele を持つマウスにおける老化アミロイド沈着-2, 日本基礎老化学会第24回大会 (2001.6.15 大阪)

付 笑影, 是永龍巳, 付 麗, 松下隆寿, 細川昌則, 馬場 聡, 内木宏延, 森 政之, 樋口京一: 種を越えたアミロイドーシス誘発の可能性; マウスモデルを用いた解析, 第90回日本病理学会総会 (2001.4.5 東京)

付 笑影, 是永龍巳, Xing Yanming, 森 政之, 松下隆寿, 細川昌則, 馬場 聡, 内木宏延, 石原得博, 樋口京一: 種を越えたアミロイドーシス誘導の可能性に関するマウスモデルを用いた解析, 日本基礎老化学会第24回大会 (2001.6.14 大阪)

郭 占軍, 森 政之, 姚 俊潔, 付 笑影, Xing Yangming, 是永龍巳, 松下隆寿, 細川昌則, 樋口京一: マウス老化アミロイドーシス修飾遺伝子の解析, 日本基礎老化学会第24回大会 (2001.6.15 大阪)

郭 占軍, 森 政之, 姚 俊潔, 付 笑影, Xing Yangming, 是永龍巳, 松下隆寿, 細川昌則, 樋口京一: マウス老化アミロイドーシス修飾遺伝子の解析, 第17回老化促進モデルマウス (SAM) 研究協議会研究発表会 (2001.7.13 京都)

柏井明子, 岸川正大, 細川昌則, 鈴木登志郎, 島田厚良: モリス水迷路学習試験による SAMP10の認知学習能の加齢変化, 第17回老化促進モデルマウス (SAM) 研究協議会研究発表会 (2001.7.12 京都)

上野正樹, 坂本晴彦, 秋口一郎, 細川昌則: 老化促進モデルマウスの海馬, 橋, 小脳における血液脳関門の加齢に伴う形態学的変化について, 第17回老化促進モデルマウス (SAM) 研究協議会研究発表会 (2001.7.12 京都)

山本昌美, 塚本徹哉, 細川昌則, 立松正衛: SAMP 3 における N-methyl-N-nitrosourea 誘発胃癌, 第17回老化促進モデルマウス (SAM) 研究協議会研究発表会 (2001.7.12 京都)

清水 亮, 松井秀樹, 細川昌則, 赤木玲子: SAMP 1 肝ミトコンドリアにおけるヘム輸送障害の可能性について, 第17回老化促進モデルマウス (SAM) 研究協議会研究発表会 (2001.7.13 京都)

笠井宗一郎, 清水基行, 松村拓郎, 奥平修三, 渡辺知子, 松下 睦, 細川昌則, 坪山直生, 中村孝志: Peak Bone

Mass を制御する QTL を導入した Congenic mice 4 系統の全身骨密度 (DXA 法), 第17回老化促進モデルマウス (SAM) 研究協議会研究発表会 (2001.7.13 京都)

2) 講演・シンポジウム

笹井芳樹 ニューテクノロジーが開く未来 科学技術フォーラム21 (2001.1.18)

笹井芳樹 試験管内での神経分化制御 第31回新潟神経学夏期セミナー (2001.7.26)

笹井芳樹 再生医学研究の現状と産学連携 京都大学・東京フォーラム (2001.11.2 東京)

笹井芳樹 脳神経の再生をめざして 第26回京都大学技術職員研修会 (2001.11.22 京都)

笹井芳樹 再生医学の可能性と実現への試み 生命ビックバンフォーラム (2001.11.6 大阪)

細川昌則, 組織レベルでの老化研究, 日本基礎老化学会第24回大会シンポジウム「老化研究におけるモデルの標準化とアプローチの提言」(2001.6.13 大阪)

細川昌則, 動物実験を用いてヒトの老化と老年性疾患をどこまで理解できますか?, 第65回日本皮膚科学会東部支部学術大会シンポジウム・市民公開講座「皮膚科医として21世紀高齢化社会医療への心構えは出来ていますか?」(2001.9.29 札幌)

細川昌則, 酸化的ストレス -- SAM マウスの老化促進機構 --, 第6回金沢神経科学シンポジウム「活性酸素による脳・神経障害」(2001.10.7 金沢)

西村泰光, In vitro での SAMP1 脾臓 CD4+T 細胞の増殖異常と産生するサイトカインの特徴, 第17回老化促進モデルマウス (SAM) 研究協議会研究発表会シンポジウム「検証 SAM のモデル特性: その3, SAMP1(2)」, (2001.7.12 京都)

再生増殖制御学分野

Department of Growth Regulation

【研究概要】

はじめに

筋形成は, 中胚葉由来の多能性細胞から筋芽細胞が生じ, それが互いに融合して筋管を形成し, さらに神経支配を受けることによって成熟して機能的な筋肉となっていく。私達の分野では, このような筋形成機構を明らかにすること, 特に, 筋形成やその再生過程に, いったいどのような異種・同種間の細胞間相互作用, あるいは細胞基質間相互作用がはたらいているのか, そしてそれらの認識機構やシグナリングはどのように制御されているのか, を解明したいと考えている。

私達は筋形成機構の研究のなかで, そのような細胞間相互作用の一翼を担いうる遺伝子群メルトリン α, β, γ をクローニングし, 先に, 株化筋衛星細胞を用いてメルトリン α が筋形成にかかわることを報告した。これらの遺伝子が属する ADAM ファミリーはメタロプロテアーゼ, ディスインテグリンドメインを持つ膜タンパク質ファミリーであり, それらの機能はまだほとんどわかっていないが, 上記のような細胞間相互作用の鍵を握る遺伝子群であることがわかってきている。

筋形成過程における細胞間相互作用のひとつの重要な要素として神経筋接合部の形成がある。神経・筋接合部の形成は、神経細胞の growth cone が筋細胞表面に到達することから始まる。そこで神経から ARIA (neuregulin) という可溶性因子が放出され、筋細胞で発現するそのリセプターにシグナルを伝える。すると筋側に変化が誘導され、胎仔期に筋細胞の上にまばらに分布していたアセチルコリンリセプターがクラスターを作りはじめ、そこに機能的なシナプスが構築されていく。ARIA は、膜タンパク質として合成されるが、それが可溶性分子として活性化・放出される。従って、シナプス形成には、シナプス前神経において膜タンパク質として合成された ARIA が可溶性分子に変換され、放出されるプロセスが、ひとつの重要な鍵を握っていると考えられる。これまで ARIA がどのようにプロセッシングを受けて可溶性分子を産生するか分かっていなかったが、私達は、メルトリン β が、マウス神経筋接合部のシナプス形成期に運動神経で強い発現が見られ、ARIA のプロセッシング活性を有することを見出したのである (Shirakabe *et al.*, J.Biol.Chem., 2001)。

目的

このように私たちは現在、メルトリンのプロテアーゼや接着因子としての機能、個体レベルでの役割を中心に研究をおこなっている。本年度は個体におけるメルトリン $\alpha \cdot \beta$ 遺伝子の役割を探る目的でそれらのノックアウトマウスを作成し解析してきたので、その結果について報告する。

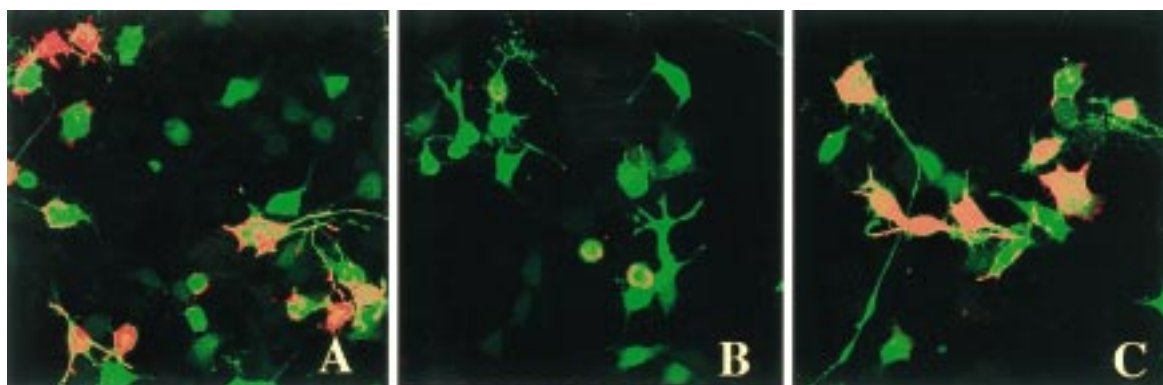
方法および結果

まず、メルトリン α 遺伝子のノックアウトマウスを作成した。メルトリン α 遺伝子の開始コドンを含むエクソンを NEO 遺伝子に組み換えることにより、翻訳産物の完全欠失変異 (null mutation) を導入した。ヘテロマウスの掛け合わせにより生じたノックアウトマウスは、その約 2/3 に形態形成の異常が見い出され、約 1/3 が生後まもなく死ぬことがわかった。この結果は近く発表する予定である。

次にメルトリン β 遺伝子のノックアウトマウスを作成した。上記のようにメルトリン β に関しては興味深いプロテアーゼ活性が証明されたことから、プロテアーゼの活性部位を含むエクソンを欠失させるターゲティングベクターを構築し、メルトリン β プロテアーゼ欠損マウスの作成を目指した。このマウスは、その85%が生後まもなく死ぬこと、メルトリン α とは異なる形態形成の異常が見られることがわかった。この結果に関しても、近く発表する予定である。

展望

これらのノックアウトマウスの作成によってわかったことは、メルトリン $\alpha \cdot \beta$ とともに、細胞の運命決定などの発生初期ではなく、それらの細胞の組織構築の過程に関与することである。



メルトリン β プロテアーゼによる細胞表面 ARIA/neuregulin のプロセッシング
神経細胞 N18の細胞外に露出している ARIA 蛋白質 (細胞外ドメインを HA 標識) を抗 HA 抗体 (Cy3 赤色) で検出した (図 A)。メルトリン β を同時に発現させると (図 B) (緑色, GFP), 細胞外ドメインが切断され、細胞表面には ARIA がほとんど残らない。プロテアーゼドメイン欠失メルトリン β を共発現してもそのような効果は得られない (図 C)。

今後の課題は、これらの遺伝子のプロテアーゼやディスインテグリンの機能と個体における役割を、細胞間相互作用の観点から捉えなおし、組織構築機構における位置付けを明らかにすること、それらをさらに分子レベルで明らかにすることである。また、筋形成過程においてはメルトリン α 、 β 、その他複数のADAMの発現が見られることから、メルトリン α ・ β 遺伝子ダブルノックアウトマウスの解析など、重複遺伝子ノックアウトマウスの作成とその解析もおこなっていきたい。

Meltrins are members of ADAMs (a disintegrin and metalloproteases), which are a family of membrane-anchored glycoproteins that play important roles in fertilization, myoblast fusion, neurogenesis, and proteolytic processing of several membrane-anchored proteins. This year, we have made knockout mice of the meltrin α and β genes. Null mutation of the meltrin α gene caused incomplete lethality and morphological defects. Metalloprotease-deficient mice of the meltrin β gene also showed incomplete lethality and morphological defects different from those of the meltrin α knockout mice. Thus, these meltrins are involved in tissue formation rather than cell type specification prior to it.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

Shirakabe, K., Wakatsuki, S., Kurisaki, T., and Fujisawa-Sehara, A.: Role of Meltrin α in the processing of neuregulin. *J. Biol. Chem.*, **276**: 9352-9358(2001).

Hiroyuki, A., Wakatsuki, S., Ishii, A., Moriyama, K., Sasaki, Y., Ohashi, K., Sekine-Aizawa, Y., Sehara-Fujisawa, A., Mizuno, K., Goshima, Y. & Yahara, I.: Phosphorylation of cofilin by LIM-kinase is necessary for semaphorin3A-induced growth cone collapse. *Nature Neurosci.*, **4**: 367-73(2001).

2) 総説

瀬原淳子：骨格筋形成の分子機構, *Connective Tissue*, (印刷中).

◆ 学会等の講演 ◆

1) 学会・研究会発表

栗崎知浩, 増田亜紀, 岩倉洋一郎, 鍋島陽一, 瀬原淳子：形態形成におけるメルトリン α の役割, 研究領域「脳を知る」のシンポジウム“脳神経科学の最先端2001”, (2001.11.21 東京)

栗崎知浩, 増田亜紀, 須藤カツ子, 坂神純子, 浅野雅秀, 岩倉洋一郎, 瀬原淳子：メルトリン α 遺伝子欠損マウスにおける筋・脂肪組織の解析, 第24回日本分子生物学会年会, (2001.12.21 横浜)

黒原一人, 栗崎知浩, 若月修二, 増田亜紀, 鍋島陽一, 浅野雅秀, 岩倉洋一郎, 瀬原淳子：メルトリン β /ADAM19遺伝子の形態形成における機能解析, 研究領域「脳を知る」のシンポジウム“脳神経科学の最先端2001”, (2001.11.21 東京)

黒原一人, 栗崎知浩, 若月修二, 小畑勉, 鍋島陽一, 浅野雅秀, 岩倉洋一郎, 瀬原淳子：メルトリン β /ADAM19遺伝子の形態形成における役割, 第24回日本分子生物学会年会, (2001.12.12 横浜)

2) 講演・シンポジウム

Sehara, A. : Roles of ADAM proteases in myogenesis, A Workshop on Muscular Dystrophy Perspectives to Studies on Myogenesis and Therapeutics of Muscular Diseases in 21st Century, (2001.3.22. Kyoto)

Sehara, A., Kurohara, K., Shirakabe, K., Wakatsuki, S., Kurisaki, T., Masuda A. : Roles of Meltrin β /ADAM19 in the Processing of Neuregulin, Cold Spring Harbor Laboratory Meetings: Proteolysis & Biological Control, (2001.5.2. New York)

Sehara-Fujisawa, A., Kurohara, K., Wakatsuki, S., Shirakabe, K., Kurisaki, T., Nabesima, Y., Iwakura, Y., Asano, M. : Meltrin beta/ADAM 19 metalloprotease participates in Proteolytic processing of neuregulin and in heart development, 14th International Congress of Developmental Biology, (2001.7.9. Kyoto)

瀬原淳子：分化における ADAM の役割，第 6 回病態と治療におけるプロテアーゼとインヒビター研究会，ワークショップ (2001.8.3 宮崎)

瀬原淳子：筋形成から再生をのぞむ ADAM ファミリーメルトリン $\alpha \cdot \beta$ の機能を中心に，第 8 回小児神経筋疾患懇話会，(2001.8.25 東京)

瀬原淳子：形態形成における ADAM ファミリーの役割，研究領域「脳を知る」のシンポジウム “脳神経科学の最先端 2001”，(2001.11.22 東京)

瀬原淳子：発生における ADAM プロテアーゼの役割，文部科学省科学研究費特定領域研究(B)・公開シンポジウム「蛋白質分解」の最前線，(2001.12.21 京都)

栗崎知浩，黒原一人，白壁恭子，若月修二，増田亜紀，内田光子，岩倉洋一郎，鍋島陽一，瀬原淳子：形態形成における ADAM ファミリーの役割，第 24 回日本分子生物学会年会 (2001.12.9 横浜)

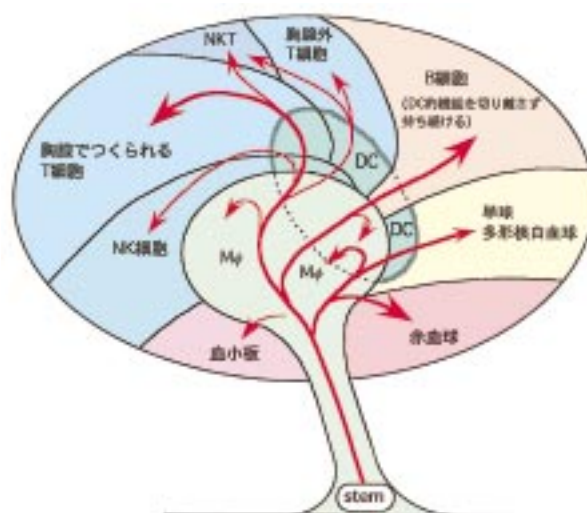
再生免疫学分野 Department of Immunology

【研究概要】

本分野の主要な研究課題は，造血幹細胞から T 細胞への分化機構の解明である．造血幹細胞は T 細胞や B 細胞だけでなく，赤血球やマクロファージも含めてすべての血液系細胞をつくり出すのであるが，幹細胞はまずそれぞれの系列に特異的な前駆細胞をつくり (コミットメント)，機能的な細胞はそれらの前駆細胞からつくられる．ごく最近に至るまで系列コミットメントの機構は全く不明で，したがって T 細胞をつくるために胸腺へ移行する前駆細胞さえも同定されていなかった．本分野では，T，B およびミエロイド (M) 系列への分化能を解析する方法，すなわち multilineage progenitor (MLP) assay 法を開発し，胸腺へ移行して T 細胞をつくる前駆細胞は T 系列へコミットされたものであることを明らかにした．さらにこの MLP 法によって，従来は赤血球 / ミエロイド系列に限定されていた前駆細胞の研究を，T，B リンパ球を含めた領域へと広げることになった．

マウス胎仔肝臓中の個々の造血前駆細胞の分化能を解析した結果，ミエロイド (M)，T，B 系列へ分化しうるもの (p-MTB)，M，T 系列あるいは M，B 系列の 2 系列系へ分化するもの (p-MT と p-MB) および 1 系列へのみ分化するもの (p-M，p-T および p-B)，合わせて 6 種類の前駆細胞の存在が明らかとなった．この中には，実験的

根拠がないままにその存在が予想されていた T, B リンパ球へ分化しうる前駆細胞 (p-TB) は含まれていない。すなわち, T 細胞と B 細胞はそれぞれ独立に, ミエロイド系列を軸として決定・分化するものと考えられた。また, p-TB が存在しないということは, 造血のプロセスに対する考え方を根本的に変更することを迫るものである。従来は, 多種類の血液細胞への分化は確率的な過程で決まるという考え方が主流であったが, これは成り立たないことになった。造血系においても, 他の細胞の発分化と同じく秩序立った (ordered) 決定の段階を繰り返しつつ分化するものと考えらるべきである。



MLP assay の開発に至った動機は, T 細胞をつくるべく胸腺へ移行する前駆細胞とはどのようなものかという疑問であった。胎生12日目のマウス胎仔肝臓中に存在し, T 細胞をつくりうる前駆細胞は p-MTB, p-MT, p-T の3種類である。一連の研究によって, 血流に乗って胎仔胸腺へ移行し T 細胞を生成するのは p-T だけであることが明らかとなった。胎性10日目のマウスの Aorta-Gonads-Mesonephros (AGM) 領域にも胎仔肝臓と同様な前駆細胞が少数ながら存在する。胎生11日目までは血液中に少数の p-MTB も検出され, AGM 領域でつくられた幹細胞が血流に乗って移動し肝臓系へ移行することが示唆された。

MLP 法は, 赤白血球系列やナチュラルキラー系列, さらには樹状細胞 (DC) へのコミットメントの研究へも応用できるよう改良することができる。NK 系列と T 系列への分化を同時に解析できるクローナル培養を用いて胸腺内前駆細胞の分化能をしらべると, 最も未分化な段階ではすべて T/NK 両系列への分化能を保有しており, T 系列への分化段階が進むにつれて NK 分化能を徐々に切り離して行くことが示された。胸腺内での T 細胞分化を含めて造血のプロセスを上図のごとく表すことができる。

胸腺内における T 細胞の増殖・分化にはストローマ細胞の関与が不可欠である。にもかかわらずストローマ細胞の役割りは明らかでない。その理由はストローマ依存性の増殖や分化を解析できる in vitro の実験系が確立されておらず, したがって適切な研究手段がないことにある。本分野では, BALB/c マウスの胸腺腫からストローマ細胞依存性に増殖するプレ T 細胞株を樹立して, 初期 T 細胞の分化と増殖におけるストローマ細胞の役割りと, その分子機構を解析している。これまでの結果から, プレ T 細胞株のストローマ依存性増殖にはヘテロ 3 量体 GTP 結合蛋白 (Gai) が関与しており, これに共役して働く受容体は CXCR4, そのリガンドはケモカイン SDF-1 であることが明らかとなった。T 細胞の増殖における G 蛋白と SDF-1 / CXCR4 の関与が明らかになったのは, この研究が初めてである。

造血前駆細胞の分化機構を解明する目的で, マウス胎仔肝臓中の T 前駆細胞にレトロウイルスベクターを用いて遺伝子を導入・発現させて, 特定の遺伝子の T 細胞分化に及ぼす作用を調べるシステムを構築した。まず手始めとして, Id2 を導入した。Id2 は4種類報告されている Id family の1つで, Id1, Id3 は T 細胞, B 細胞の分化に重要な転写因子である E 蛋白の機能を阻害することが分かっている。また, Id2 ノックアウトマウスの成獣では, NK 細胞が大幅に減少していることがすでに報告されていた。われわれの実験結果からも, Id2 を強制発現させるとミエロイド (M) 系列細胞の分化は正常であるものの, T・B 系列細胞の分化がほぼ完全にストップすることが確認された。しかし予想に反して, NK 細胞もほとんど出現しなかった。さらに, B 系列へのみ分化できる前

駆細胞 (p-B) のみならず, M, B 両系列へ分化できる前駆細胞 (p-MB) も分化・増殖できないことが判明した。

The main field of research in this department concerns the development of T cells from hematopoietic stem cells. An experimental system to examine the developmental capability of individual hematopoietic progenitors to generate T, B and myeloid (M) cells has been established in our department. By using this system, named multilineage progenitor (MLP) assay, we are investigating the process of lineage commitment of hematopoietic progenitors. Previously, the first step of the commitment of the stem cell has been thought to be the split between erythro-myeloid (E/M) and lymphoid (T/B) lineages. Studies in this department elucidated that T and B cell lineage committed progenitors (p-T and p-B, respectively) are produced through a completely different pathway. p-T, p-B and myeloid progenitor (p-M) were found to be generated from multipotent progenitors through bipotent p-MT and p-MB stages.

Our current study concerns the isolation and characterization of p-T. It is found that a large majority of thymic as well as prethymic p-T are bipotent to generate T and NK cells. We found that the earliest thymic progenitors are expanded by 100-1000-fold before T cell receptor (TCR) β -chain rearrangement. This proliferation represents an essential process for clonal diversification of TCR β chains. Our project include also the role of thymic environment for differentiation and growth of T cells as well as the mechanism of T cell receptor gene rearrangement.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

- Ikawa, T., Fujimoto, S., Kawamoto, H., Katsura, Y., and Yokota, Y.: Commitment to natural killer cells requires the helix-loop-helix inhibitor Id2. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **98**: 5164-5169(2001).
- Ohmura, K., Kawamoto, H., Lu, M., Ikawa, T., Ozaki, S., Nakao, K., and Katsura, Y.: Immature multipotent hematopoietic progenitors lacking long-term bone marrow-reconstituting activity in the aorta-gonad-mesonephros region of murine day10 fetuses. *J. Immunol.* **166**: 3290-3296(2001).
- Shimizu, C., Kawamoto, H., Yamashita, M., Kimura, M., Kondou, E., Kaneko, Y., Okada, S., Tokuhisa, T., Yokoyama, M., Taniguchi, M., Katsura, Y., and Nakayama, T.: Progression of T cell lineage restriction in the earliest subpopulation of murine adult thymus visualized by the expression of Ick proximal promoter activity. *Int. Immunol.* **13**: 105-117 (2001).
- Egawa, T., Kawabata, K., Kawamoto, H., Amada, K., Okamoto, T., Fujii, N., Kishimoto, T., Katsura, Y., and Nagasawa, T.: The earliest stages of B cell development require a chemokine stromal cell-derived factor/pre-B cell growth-stimulating factor. *Immunity* **15**: 1-20(2001).
- Yoshida, H., Kawamoto, H., Santee, S.M., Hashi, H., Honda, K., Nishikawa, S., Ware, C. F., Katsura, Y., and Nishikawa, S.-I.: Expression of $\alpha 4\beta 7$ integrin defines a distinct pathway of lymphoid progenitors committed to T cells, fetal intestinal lymphotoxin producer, NK, and dendritic cells. *J. Immunol.* **167**: 2511-2521(2001).
- Itoi, M., Kawamoto, H., Katsura, Y. and Amagai, T.: Two distinct steps of immigration of hematopoietic progenitors into the early thymus anlage. *Int. Immunol.* **13**: 1203-1211(2001).

2) 総 説

Katsura, Y. and Kawamoto, H.: Stepwise lineage restriction of progenitors in lympho-myelopoiesis. *Int. Rev. Immunol.* 20: 1-20(2001).

桂 義元, 伊川友活, 河本 宏: 造血幹細胞からリンパ球系列へのコミットメント. *実験医学* 19: 28-34 (2001).

桂 義元, 河本 宏: 造血幹細胞による血液・リンパ球の再生. *炎症と免疫* 9: 28-34 (2001).

桂 義元, 河本 宏: 造血プロセスに現れる T, B リンパ球進化の足跡. *医学のあゆみ* 199: 183-188 (2001).

河本 宏, 桂 義元: リンパ球亜群への分化と関与要因 -- 系列決定は環境によって誘導されるか. *臨床免疫* 36: 245-254 (2001).

河本 宏, 伊川友活, 桂 義元: T 前駆細胞は B 前駆細胞に比べて胎生の早期に出現する. *臨床免疫* 36: 584-593 (2001).

河本 宏, 伊川友活, 桂 義元: 胸腺中の T/NK / 樹状細胞に共通の前駆細胞. *免疫* 2002 p.142-151 (2001).

◆ 学会等の講演 ◆

1) 学会・研究会発表

Katsura, Y.: Prethymic and intrathymic processes of lineage commitment and differentiation of hematopoietic progenitors toward T cells. Molecular Control of Lymphopoiesis. A Workshop(2001 3.12 Oklahoma)

Katsura, Y.: Prethymic and intrathymic processes of lineage commitment and differentiation of hematopoietic progenitors towards T cells. Symposium in Honor of the Retirement of Klaus Hartmann. Molecular and cellular aspects of thymus development .(2001 4.20 Radebeul, Germany)

喜納辰夫, 桂 義元: BALB/c バックグラウンドの CD45.1 congenic マウスにおける免疫異常. 第31回日本免疫学会学術集会 (2001.12.13 大阪)

Fujimoto, S., and Katsura, Y.: Overexpression of Id2 in murine hematopoietic progenitors inhibit B and T cell development. Symposium on Tissue Engineering .(2001.1.19 Kyoto)

藤本真慈, 伊川友活, 横田義史, 桂 義元: TCRβ 鎖遺伝子の再構成が開始されるマウス胎仔胸腺細胞分画に導入した Helix-Loop-Helix 因子 Id2 の T 細胞に及ぼす影響. 第24回日本分子生物学会年会 (2001.12.9 横浜)

藤本真慈, 伊川友活, 横田義史, 桂 義元: Helix-Loop-Helix 因子 Id2 を過剰発現させたマウス胎仔胸腺前駆細胞の分化. 第31回日本免疫学会学術集会 (2001.12.12 大阪)

Ikawa, T., and Katsura, Y. Commitment of hematopoietic progenitor cells toward T cell lineage. Symposium on Tissue Engineering .(2001.1.19 Kyoto)

Ikawa, K.: Generation of dendritic cells and natural killer cells from a single T cell progenitor. Thymus Workshop. Conference on T Lymphocyte Development and Function .(2001 5.13 Kerkrade, The Netherlands)

伊川友活, 河本 宏, 陸 敏, 糸井マナミ, 雨貝 孝, 桂 義元: 胎仔期マウスにおける T 前駆細胞の胸腺への移行. 第31回日本免疫学会学術集会 (2001.12.12 大阪)

陸 敏, 河本 宏, 伊川友活, 藤本真慈, 桂 義元: Adult thymus 中の初期分化段階における T 前駆細胞が示す分化・増殖能. 第31回日本免疫学会学術集会 (2001.12.12 大阪)

河本 宏, 陸 敏, 糸井マナミ, 雨貝 孝, 桂 義元: 胎児期マウスにおける T 前駆細胞の胸腺への移行. 第31回日本免疫学会学術集会 (2001.12.12 大阪)

駒庭学志，河本 宏，桂 義元，宇高恵子：MHC classII 分子の脂質膜ドメイン合成が CD4/CD8 T 細胞分化に及ぼす影響．第31回日本免疫学会学術集会（2001 .12 .12 大阪）

栄川 健，川端健二，河本 宏，天田 啓，岡本里香，岸本忠三，桂 義元，長澤丘司：系列決定直後の B 前駆細胞におけるケモカイン SDF-1 / PBSF の役割．第31回日本免疫学会学術集会（2001 .12 .13 大阪）

2) 講演・シンポジウム

河本 宏，桂 義元：造血幹細胞からのコミットメントのプロセス．第43回日本臨床血液学会総会．シンポジウム 5 造血幹細胞の増殖と分化（2001 .11 .14 神戸）

生体システム医工学研究部門

医用システム工学分野

Department of Medical System Engineering

【研究概要】

本研究分野の研究は大きく3種類に大別することができる。一つは「人工関節の機能を改善する研究」である。人工関節の多くは主観的な臨床経験に基づいて設計されているため、その構造健全性に関する知識は少ないのが現状である。本研究では特に人工膝関節に見られるデラミネーション破壊に注目してそのメカニズムの解明、破壊を防ぐ材料の開発や人工膝関節のデザインを行っている。当研究分野にて設計された人工関節はすでに臨床使用が始められ、また、ビタミンEを含有する超高分子量ポリエチレンは科学技術振興財団の委託を受けて開発プロジェクトがスタートした。

2番目には「人工関節を用いずに関節を治す研究」である。軟骨再生の技術が発達しつつあるが、現在の技術では人工関節治療の代わりになるほど力学機能の高い関節を再生させることはできない。当研究分野では人工関節の技術と軟骨再生の技術とを融合させた新しい発想で人工関節の代わりとなり得る治療法と治療材料を開発している。

当研究分野では、その他にも磁気的生体に及ぼす影響に関する研究、靱帯、腱、半月板、等の再生、再建に関わる研究など多くの研究を行っている。これが3番目の範疇である。それぞれの研究に共通するのは、Problem oriented な研究発想である。”Clinically relevant”な研究を実践するために、医、工、生物学をはじめ様々な分野の研究者の協力を得ている。京都大学各研究室のみならず東邦大学、奈良医科大学、信州大学、農業生物資源研究所、産業医学総合研究所など、数多くの研究者たちのご指導、ご協力の上に当研究分野の研究が成り立っている。

Aim : To develop medical devices and biomaterials by systematizing medical and engineering technique and performances.

Policy of this department is to contribute to the clinical issue by means of problem-oriented methods. Orthopedic surgeons, Engineers, a veterinarian, and a pharmacist are working together in this department to solve medical problems. Not only engineering but also clinical performances are evaluated quantitatively and medical devices and methods are designed based on these data.

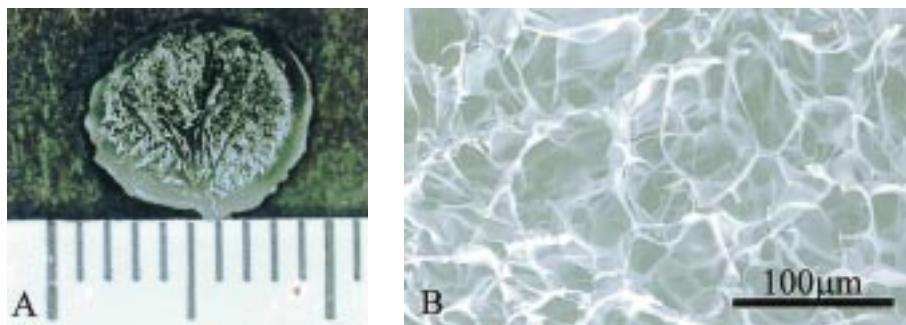
One of our research subject is designing a new therapeutic system for joint disease. (1) Development of devices for whole joint regeneration (Total Joint Regeneration System). and (2) Designing new scaffolds for cartilage and meniscus regeneration. are in this subject.

Another research subjects is “durability of artificial knee joint”. (3) Mechanical designing and application of a new artificial knee joint with high duration and high flexion of knee. (4) Development of UHMWPE with high fatigue and wear resistance (Vitamin-E added UHMWPE), are in this research category.

Other subjects are as follows ; (5) Development of anti-adhesive membrane and evaluating sliding performances of flexor tendon. (6) Designing and using human interface for child and handicapped person. (7) Designing scaffold for ligament using bio-absorbable fiber with piezoelectric performance. (8) Designing scaffold for membrane-regeneration..

(9) Development of bio-absorbable fixation devices and measuring its performances. (10) Measuring effects of magnetic field on tissue. (11) Measuring handling characteristics of medical devices. (12) Sports Biomechanics. (13) Measuring real-time mechanical environment in vivo and development of implantable sensors. (14) Designing surface lubricated biomaterials and measuring its clinical performances.

The methods common to all these works are focused on evaluating the mechanical performance in an attempt to address the clinical demands.



A : Photograph of fibroin sponge
B : Scanning electron micrograph of fibroin sponge
(mean pore diameter of the sponge was about 80μm)

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

Hattori K., Yoshikawa T., Takakura Y., Aoki H., Tomita N. : Osteogenic potential of osteogenic cell / collagen sponge construct for bioartificial periosteum. *Bioceramics* (in press)

Hattori, K., Tomita, N., Yoshikawa, T. & Takakura, Y. : Prospects for bone fixation -development of new cerclage fixation techniques, *Mater. Sci. Eng. C*, **C17** : 27-32 (2001).

Morita, Y., Tomita, N., Aoki, H., Wakitani, S., Tamada, Y., Suguro, T. & Ikeuchi, K : Visco-elastic properties of cartilage tissue regenerated with fibroin sponge, *Biomed. Mater. Eng* (in press)

Xu, S., Tomita, N., Ohata, R., Yan, O. & Ikada, Y. : Static magnetic field effects on bone formation of rats with an ischemic bone model. *Biomed Mater Eng* **11** : 257-263 (2001).

池内 健, 清水慶彦, 中村達雄, 富田直秀, 葭仲潔 : より豊かな生活に貢献する医療技術に冠する研究 -- 磁界による生体内デバイスの方向制御, *医科学応用研究財団研究報告*, **18** : 39-42 (2001).

桜本逸男, 森亜希子, 永田員也, 富田直秀, 蔵本孝一, 河野俊一 : 人工関節用超高分子量ポリエチレンの添加物による耐酸化性向上効果, *生体材料*, **19** : 187-194 (2001).

桜本逸男, 森亜希子, 永田員也, 富田直秀, 蔵本光一, 河野俊一 : 人工関節用 UHMWPE の機械的性質に及ぼす酸化劣化の影響, *日本機械学会論文集*, **67** (662-A) : 1702-1709 (2001)

服部耕治, 吉川隆章, 高倉義典, 富田直秀, 脇谷滋之 : 先端技術を用いた骨折治療 -- 骨髄間質細胞 / コラーゲンスポンジ複合による人工骨膜作製の試み -- , *中部日本整形外科災害外科学会雑誌*, **44** : 88 (2001).

服部耕治, 富田直秀, 高倉義典 : 新しい海綿骨用スクリューの開発 -- スクリューの機械的特性についての検討, *臨床雑誌, 整形外科*, **52** : 223-226 (2001).

柴田延幸, 富田直秀, 池内 健: UHMWPE 内におけるき裂のシミュレーション -- 第二報: 局所弾性率の影響 -- , *日本臨床バイオメカニクス学会誌*, 22: 151-155 (2001).

長澤貴司, 関戸 宏, 寺田宏平, 富田直秀, 池内 健: 膝関節半月板のバイオメカニクスに関する研究, *日本臨床バイオメカニクス学会誌*, 22: 309-312 (2001).

御守直樹, 富田直秀, 加藤功二, 青山栄一, 柴田延幸: 人工膝関節用超高分子量ポリエチレンのデラミネーション破壊における粒界の変形, *日本臨床バイオメカニクス学会誌*, 22: 163-167 (2001).

3) 総 説

原田恭治, 富田直秀: 軟骨再生における力学的環境の設定, *骨・関節・靱帯*, 14: 809-813 (2001)

◆ 学会等の発表 ◆

1) 学会・研究会発表

富田直秀: 荷重支持組織の再建と再生, 医工学フォーラム -- 2000年度特別学術講演会 -- (2001 2.14 京都)

富田直秀: Total Joint Regeneration へのイオン工学応用の可能性, 第10回医用イオン工学研究会 (2001 2 9 池田市)

富田直秀, 原田恭治, 森田有亮, 岡 正典, 池内健, 玉田靖, 勝呂 徹, 青木秀之, 脇谷滋之: 荷重組織の再生と材料設計, 第3回生体組織工学シンポジウム, (2001 3.16 吹田市)

富田直秀: RA 用人工関節に求められる力学的特徴, 第45回日本リウマチ学会総会・学術集会 (2001 5.14-16 東京)

Tomita, N.; Onmori, N.; Aoyama, E.; Shibata, N.: MECHANISUM FOR DELAMINATION DESTRUCTION OF UHMWPE KNEE COMPONENT, 4th Combined Meeting of the Orthopaedic Research Societies of The U. S. A., Canada, Europe, and Japan (2001.6.1-3. Rodhos, Greece)

富田直秀: 整形外科分野から工学に期待すること, 平成13年度 (第32回) 繊維学会夏季セミナー (2001 9 5-7 尾道)

富田直秀: 荷重支持組織再建における生体内力学環境の設計, シンポジウム応用医工学 (2001 9 7 宇部)

Tomita, N., Aoki, H., Harada, Y., Wakitani, S., Suguro, T.: DEVELOPMENT OF DEVICES FOR TOTAL JOINT REGENERATION, ISTA 2001: The 14th Annual Symposium of the International Society for Technology in Arthroplasty (2001.9.26-29. Maui, Hawaii)

Tomita, N., Sakuramoto I., Mori A., Onmori N., Aoyama, E.: MECHANICAL BEHAVIOR OF VITAMIN-E-CONTAINING UHMWPE, ISTA 2001: The 14th Annual Symposium of the International Society for Technology in Arthroplasty (2001.9.26-29. Maui, Hawaii)

富田直秀, 御守直樹, 青山栄一, 柴田延幸, 桜本逸男, 森亜希子: ビタミン E 添加 UHMWPE の機械的性質及びデラミネーション破壊への効果, 第23回日本バイオマテリアル学会大会 (2001.10 22-23 京都)

富田直秀, 原田恭治, 青木秀之, 玉田 靖, 脇谷滋之, 森田有亮, 勝呂 徹, 池内 健, 服部耕治: 軟骨再生による Total Joint Regeneration System の開発 (第一報: フィブ, ロインスポンジを用いた軟骨再生), 第23回日本バイオマテリアル学会大会, (2001.10 22-23 京都)

Tomita, N., Aoki, H., Morita, Y., Wakitani, S., Tamada, Y., Ikeuchi, K., Hattori, K. & Suguro, T.: Reconstruction of

Knee Joint Using Total Knee Regeneration System, The 6th International Symposium on Tissue Engineering for Therapeutic Use (2001 .10 25-26 大阪)

富田直秀：Total Joint Regeneration System を用いた関節の再生，日本バイオメカニクス研究連絡協議会第7回ジョイント講演会 (2001 .11 .17 大阪)

徐 慎之，富田直秀，大幡里絵，閻 啓昌，茂 義人：ラット骨粗鬆症大腿骨への静磁場の影響，第13回バイオエンジニアリング講演会 (2001 .1 .16-17 仙台)

徐 慎之，富田直秀，大幡里絵，閻 啓昌，茂 義人：虚血性骨粗鬆モデルに及ぼす静磁場の影響，第16回日本整形外科学会基礎学術集会 (2001 .10 .18-19 広島)

徐 慎之，富田直秀，茂 義人：大腿骨虚血ラットへのパルス磁場の影響，5th Symposium on New Magneto-Science (2001 .11 7-9 つくば市)

森田有亮，富田直秀，青木秀之，脇谷滋之，玉田 靖，勝呂 徹，池内 健：軟骨再生過程の粘弾性評価，第3回生体組織工学シンポジウム，(2001 3 .16 吹田市)

森田有亮，富田直秀，青木秀之，脇谷滋之，玉田 靖，勝呂 徹，池内 健：フィブリンを用いて再生された軟骨の粘弾性特性，第14回再生医工学委員会 (2001 6 22 京都)

森田有亮，富田直秀，青木秀之，脇谷滋之，玉田 靖，勝呂 徹，池内 健：軟骨再生過程の粘弾性評価，日本機械学会2001年次大会学術講演会 (2001 8 28-30 福井)

Morita, Y., Tomita, N., Aoki, H., Wakitani, S., Tamada, Y., Harada, Y., Suguro, T., Ikeuchi, K.: Visco-elastic properties of regenerated cartilage tissue using fibroin sponge, Switzerland-Japan Workshop on "New directions in cellular and tissue biomechanics" (2001 9 24-28 Swiss)

森田有亮，富田直秀，青木秀之，脇谷滋之，玉田 靖，原田恭治，勝呂 徹，池内 健：培養軟骨再生過程における粘弾性特性の変化，第16回日本整形外科学会基礎学術集会 (2001 .10 .18-19 広島)

森田有亮，富田直秀，池内 健，青木秀之，勝呂 徹，脇谷滋之，玉田 靖：軟骨培養過程における粘弾性特性の測定，第20回日本運動器移植・再生医科学研究会 (2001 .10 27 京都)

森田有亮，富田直秀，池内 健，青木秀之，勝呂 徹，脇谷滋之，玉田 靖：培養軟骨再生過程における動的粘弾性特性の変化，第28回日本臨床バイオメカニクス学会 (2001 .11 .16-17 大阪)

石村雅男，富田直秀，幅田 孝，高倉義典：深屈曲・高耐久性を目指した人工関節 "ASUKA" の開発，第31回日本人工関節学会 (2001 3 22-24 東京)

服部耕治，吉川隆章，高倉義典，富田直秀，脇谷滋之：骨髄間質細胞/コラーゲンスポンジ複合による人工骨膜作製の試み，第96回中部日本整形外科・災害外科学会 (2001 5 31-6 .1 大阪)

Hattori, K.; Tomita, N.; Yoshikawa, T.; Takakura, Y.; Aoki, H.; Wakitani, S.: OSTEOGENIC PTENTIAL OF OSTEOGENIC CELL/COLLAGEN SPONGE CONSTRUCT FOR ARTIFICIAL PERIOSTEUM, 4th Combined Meeting of the Orthopaedic Research Societies of The U. S. A., Canada, Europe, and Japan (2001.6.1-3. Rodhos, Greece)

服部耕治，吉川隆章，高倉義典，富田直秀：骨髄間質細胞/コラーゲンスポンジ複合人工骨膜の骨形成能，第27回日本骨折治療学会 (2001 7 6-7 横浜)

服部耕治，幅田 孝，山岡茂雄，高倉義典，青木秀之，森 浩二，森田有亮，池内 健，富田直秀：超小型トランスデューサーを用いた関節内超音波探触子の開発 -- ウェーブレット変換を応用した関節軟骨の評価方法，第27回日本関節鏡学会 (2001 9 21-22 札幌)

服部耕治, 吉川隆章, 高倉義典, 青木秀之, 原田恭治, 富田直秀: 骨髄間質細胞 / コラーゲンスポンジ複合による人工骨膜, 第16回日本整形外科学会基礎学術集会 (2001 .10 .18-19 広島)

服部耕治, 富田直秀, 森 浩二, 森田有亮, 池内 健, 青木秀之, 幅田 孝, 山岡茂雄, 高倉義典: 超小型トランスデューサーを用いた関節内超音波探触子の開発 -- ウェーブレット変換を応用した関節軟骨・軟骨下骨の評価法 -- , 第16回日本整形外科学会基礎学術集会 (2001 .10 .18-19 広島)

服部耕治, 吉川隆章, 高倉義典, 青木秀之, 富田直秀: コラーゲンスポンジを足場とする骨髄間質細胞の骨形成能について -- 人工骨膜作製にむけて -- , 第23回日本バイオマテリアル学会大会 (2001 .10 .22-23 京都)

Aoki, H.; Tomita, N.; Harada, Y.; Wakitani, S.; Hattori, K.; Suguro, T.: MECHANICAL SUPPORTS FOR TOTAL JOINT REGENERATION, 4th Combined Meeting of the Orthopaedic Research Societies of The U. S. A., Canada, Europe, and Japan (2001.6.1-3, Rodhos, Greece)

Aoki, H., Tomita, N., Morita, Y., Ikeuchi, K., Harada, Y., Wakitani, S., Tamada, Y., Suguro, T.: A NEW SCAFFOLD FOR ARTICULAR CARTILAGE REGENERATION MADE OF FIBROIN SPONGE, ISTA2001: The 14th Annual Symposium of the International Society for Technology in Arthroplasty (2001.9.26-29. Maui, Hawaii)

青木秀之: フィブロインを用いた軟骨の再生, 第11回生物機械システム研究会 (2001 .10 .13 京都)

青木秀之, 富田直秀, 玉田靖, 原田恭治, 森田有亮, 服部耕治, 脇谷滋之, 勝呂 徹: フィブロインゲルを用いた軟骨再生の試み, 第16回日本整形外科学会基礎学術集会 (2001 .10 .18-19 広島)

青木秀之, 富田直秀, 玉田 靖, 森田有亮, 池内 健, 脇谷滋之, 勝呂 徹: フィブロインゲルを用いた軟骨再生の試み, 第12回日本機械学会バイオエンジニアリング学術講演会・秋季セミナー (2001 .10 .27-28 名古屋)

青木秀之, 勝呂 徹, 富田直秀, 森田有亮, 原田恭治, 玉田 靖, 脇谷滋之: フィブロインを用いた軟骨再生の試み, 第28回日本臨床バイオメカニクス学会 (2001 .11 .16-17 大阪)

Shibata, N., Tomita, N., Ikeuchi, K.: Numerical contact model of delaminating destruction in ultra-high molecular weight polyethylene (UHMWPE) knee component, International Society of Biomechanics _XV th Congress (2001.7.8-13. Zurich, Swiss)

柴田延幸, 富田直秀, 御守直樹, 加藤功二, 池内 健, 青山栄一: 人工膝関節用 UHMWPE のデラミネーションはかいにおける微視的不均一構造 (粒界) の影響, 日本機械学会2001年次大会学術講演会 (2001 8 28-30 福井)

柴田延幸, 加藤功二, 富田直秀, 池内 健: 微小硬度法を用いた超高分子量ポリエチレンの粒内 / 粒界における局所弾性率の評価, 第12回日本機械学会バイオエンジニアリング学術講演会・秋季セミナー (2001 .10 .27-28 名古屋)

Shibata, N., Tomita, N. & Ikeuchi, K.: Numerical simulation to examine morphogenetic effects of periodical load on cultivated tissue of articular cartilage, FIFTH INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON COMPUTER METHODS IN BIOMECHANICS AND BIOMEDICAL ENGINEERING (2001.10.31-11.3. Roma)

柴田延幸, 御守直樹, 富田直秀, 池内 健: γ 線照射による超高分子量ポリエチレン (UHMWPE) の劣化がデラミネーション破壊に及ぼす影響, 第28回日本臨床バイオメカニクス学会 (2001 .11 .16-17 大阪)

原田恭治: 関節軟骨の再生における力学的環境の設定, 第132回日本獣医学会学術集会 (2001 .10 .6-7 盛岡)

原田恭治: 生体内力学刺激による軟骨組織の再生, 第11回生物機械システム研究会 (2001 .10 .13 京都)

原田恭治, 富田直秀, 脇谷滋之, 青木秀之, 森田有亮, 岡正典: 関節軟骨の再生に及ぼす滑り運動の影響, 第16回日本整形外科学会基礎学術集会 (2001 .10 .18-19 広島)

Harada, Y., Tomita, N., Tsutsumi, S., Y Mii, Y., Wakitani, S. : Cartilage Induction by Controlled Mechanical Stimulation in vivo, The 13th World Congress of International Society Artificial Organs (2001 .11 5-8 大阪)

大幡里絵, 富田直秀, 筏 義人: 多孔質膜中イオン透過に対する静磁場の影響, 第16回日本整形外科学会基礎学術集会 (2001 .10 .18-19 広島)

大幡里絵, 富田直秀, 筏 義人: 多孔質膜中イオン透過に対する静磁場の影響, 5th Symposium on New Magneto-Science (2001 .11 7-9 つくば市)

Shenzhi Xu, Naohide Tomita, Rie Ohata, Qichang Yan and Yoshito Ikada: Static Magnetic Field Effects on Bone Formation of Rats with an Ischemic Bone Model, The Sixth International Symposium on Tissue Engineering for Therapeutic Use (2001 .10 25-26 大阪)

森 浩二, 服部耕治, 富田直秀, 池内 健: 超音波を利用した関節軟骨の測定, 第12回日本機械学会バイオエンジニアリング学術講演会・秋季セミナー (2001 .10 27-28 名古屋)

森 浩二, 富田直秀, 池内 健, 服部耕治, 高倉義典: 超音波を利用した関節軟骨の力学特性の測定, 第28回日本臨床バイオメカニクス学会 (2001 .11 .16-17 大阪)

寺田宏平, 竹中 慎, 池内 健, 富田直秀: 関節荷重下での屈曲・回旋時の膝半月板のバイオメカニクス, 第28回日本臨床バイオメカニクス学会 (2001 .11 .16-17 大阪)



生体機械工学分野

Department of Biomechanical Engineering

【研究概要】

医学の目的は単に病気を治療することではなく、生体機能と生活の質を再生させることである。本分野では機械工学を医療に応用して生体組織を再生しその力学機能を評価するとともに、再生医療、低侵襲医療等の新しい医療技術に関する研究を行っている。2001年に実施した主な研究の内容は次の通りである。

1. 膝半月板の機能の解明と再生

半月板は膝関節の運動に重要な役割を果たしているにもかかわらず、その力学機能はまだ解明されておらず、再生も困難である。そこで、膝関節に内外側力、前後方力、内外反モーメント、回旋モーメントを加え、MRIと変位計によって半月板の変位を測定した。各靱帯と左右半月板を切断して関節運動の変化を調べることにより、それらの力学機能を推定した。その結果、膝関節の動きを制限して安定性を高める主役は、十字靱帯ではなく内側半月板であり、関節荷重が大きくなるほど半月板の寄与の度合いが増加することが明らかになった。この結果をもとに損傷半月板の力学機能を再生させる治療方法を追求している。

2. 生体組織の表面ゲル水和潤滑

関節軟骨、腱と腱鞘、筋膜、消化管内壁などの表面には粘液が存在して潤滑機能を有するが、その機構はほとんどわかっていなかった。私たちは関節軟骨や小腸壁面に存在する粘液層を調べた結果、これらの層は単に粘度の高い液体が付着したものではなく、ヒアルロン酸を主鎖とする親水性の高分子が表面に強固に結合したものであり、それに引き付けられた水によって面が潤滑され、対向面間の接触が防がれることを明らかにした。組織の

実質部分に比べて表面ゲル層の再生は困難であるが、表面潤滑層が無いと摩擦により表面が損傷するだけでなく癒着に至る可能性がある。したがって関節軟骨などの摺動面においては実質部分だけではなく潤滑機能を有するゲル層を再生させる必要がある。

3．セラミック / セラミック人工関節による関節機能の再建

セラミックはポリエチレンに比べて耐摩耗性が高いだけでなく、生体反応が生じにくいので人工関節材料に適しているが、まれに割れ、欠け、剥離が生じる。そこで、炭化珪素、高強度ジルコニア、アルミナ・ジルコニア・ナノコンポジットなどの新材料について摩耗試験を行った。また脱臼を想定した応力集中下での試験も実施し、耐摩耗性と安全性の高い人工関節材料を追求した。

4．超音波による生体物性の計測

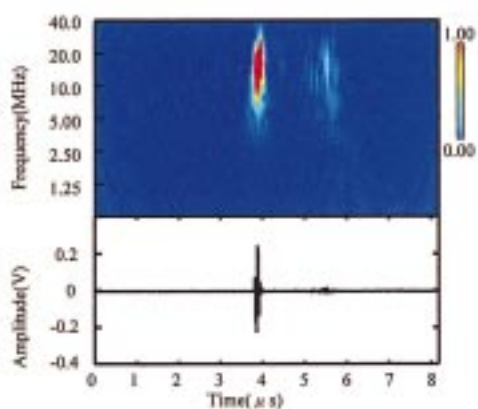
超音波の反射波をウェーブレット変換して組織表面の物性を非接触で計測する技術を開発し、関節鏡下での膝関節の軟骨表面の診断に応用した。この技術により、変形性関節症を早期に発見することが可能となり、移植あるいは再生した関節軟骨を診断してその機能を評価できた。

5．内視鏡とカテーテルの体内における誘導技術

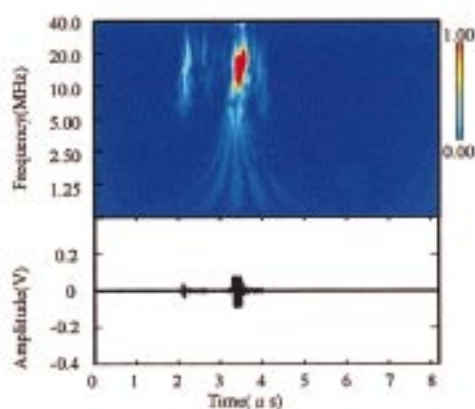
回転と振動を利用して内視鏡、カテーテル、体内ロボットを低侵襲で推進させる技術を開発した。消化管の内壁に存在する粘液層を利用して、非接触で流体力学的に機器を推進させた。血管など粘液を利用できない場合には、振動によって内壁と機器の間の凝着を防止することにより、摩擦が数分の一に減少して組織を損傷することなく推進させることができた。外部に設置した電磁石からの磁力によってカテーテルを誘導することにより血管の分岐部を容易に通過させることができた。以上の技術により、勘と経験に過度に頼らなくても医用機器を安全に誘導することが可能となった。

6．ステントの最適設計法

挿入が容易で最狭窄率の低い冠動脈用ステントを開発するために有限要素解析と各種の力学試験を実施した。ステントの各部を機能別に分割し、各々にすぐれた力学特性を与えることによって全体の性能を高めることができた。その結果をもとに、計算機によって各部の形状と寸法を最適化した結果、力学特性のすぐれた高性能なステントを設計することができた。



(a) Native cartilage



(b) Regenerated cartilage

左：生体関節軟骨の超音波エコー（下）とそのウェーブレットマップ（上）
 右：再生した関節軟骨の超音波エコー（下）とそのウェーブレットマップ（上）
 これらの図から、再生した関節軟骨は生体関節軟骨と比べて強度が低いことがわかる

The goal of the medicine is not only to cure diseases but also to recover the quality of life. In 2001, the members of this department have been challenging to regenerate tissues, to reconstruct their functions, to develop regenerative treatments and to develop low invasive medical technologies by application of mechanical engineering.

1. Investigation of knee menisci and reproduction of its function

Displacements of the knee menisci by external forces and moments were measured accurately with new probes and MRI images. The mechanical function of the menisci was estimated by the comparison of the result for deficient menisci or deficient ligament with the result for control specimen. It is found that the contribution of the medial meniscus to the knee stability increases with an increase of joint load. When a man is standing and an external force or a moment is applied to his knee, the meniscus supports much more force than the cruciate ligaments.

2. Study of surface gel hydration lubrication on tissue surfaces

The mucus layers exist on the articular cartilage surface, the tendon/sheath interface and the intestine wall. They lubricate the surface and protect the surface from injury. The structure and the function of the gel layer had not been known though it is very important. We have found that hydrophilic polymers attach firmly to the surface absorbing much water. During sliding, the water molecules attracted by the polymers contribute to keep low friction and to prevent injury. While the surface gel layer is more important than the underlying substance for some of the sliding tissues, regeneration of gel layer is more difficult than regeneration of the substance in general.

3. Reconstruction of joint function with ceramic/ceramic prostheses

Alumina ceramic has higher wear resistance and causes lower biological response than ultra-high molecular weight polyethylene. However, a ceramic joint may possibly break by stress concentration in extreme mechanical conditions because it is brittle. We have tested wear properties of silicon carbide, high strength zirconia and alumina/zirconia nano-composite because they are stronger or tougher than pure alumina. In addition, wear test under concentrated stress were performed to simulate impingement or dislocation to develop ceramic/ceramic total joint prostheses with high wear resistance and high safety.

4. Ultrasonic measurement of mechanical properties of tissue surface

We have developed a new method to measure the mechanical properties of tissue surface in vivo with analysis of ultrasonic waves by wavelet transformation. This technology was applied to diagnoses of articular cartilage in the field of orthopedics. Cartilage softening or a sign of osteoarthritis can be detected with a small sensor attached to arthroscopy. In addition, mechanical properties and functions of regenerated or grafted cartilage can be evaluated by this method.

5. Development of guiding technology for endoscopes and catheters

We have developed several new methods to drive medical devices. In intestine, non-contacting, non-invasive propulsion has become possible by use of hydrodynamic effect with mucus. Vibration can reduce friction and injury too by preventing adhesion between the tissue surface and the device. We have succeeded to guide a catheter along a curved tube to the diseased area by controlled lateral force caused by magnetic field from electromagnet set outside of the body. Thus, operations of endoscopes and catheters have become easier and safer.

6. Development of vascular stents by optimization

Finite element analysis and mechanical tests were performed in order to investigate the mechanical property of coronary stents and to improve them. The stent was divided in parts according to function and the each component was optimized. The developed stent has excellent function in accessibility, reliability, productivity, safety and low

probability of restenosis.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

- Ikeuchi, K., Morita, Y., Yoshida, H. & Kusaka J.: Effect of tribochemical reaction on wear of silicon carbide for joint prostheses. *J. Ceramic Process. Res.* **2**: 35-37 (2001).
- Ikeuchi, K., Kusaka, J. & Morita, Y.: Effect of dissolved oxygen on wear of silicon carbide for joint prostheses.. *Tribol. Biomech. Systems*, 136-142 (2001).
- Morita, Y., Tomita, N., Aoki, H., Wakitani, S., Tamada, Y., Suguro, T. & Ikeuchi, K.: Visco-elastic properties of cartilage tissue regenerated with fibroin sponge. *Biomed. Materi. Eng.* (in press)
- Morita, Y., Yoshida, H., Ikeuchi, K. & Ueno, M.: Effect of sliding direction on wear properties of ceramics for joint prostheses.. *Tribol. Biomech. Systems*, 128-135 (2001).
- Zhou, YS., Quan, YX., Yoshinaka, K., Ikeuchi, K.: A new medical microrobot for minimal invasive surgery. *J Mech E, Part H J. Eng. Med.* **215**: 215-220 (2001).
- Al-Abdullat, Y., Tsutsumi, S., Nakajima, N., Ohta, M., Kuwahara, H. & Ikeuchi, K.: Surface Modification of Magnesium by NaHCO₃ and Corrosion Behavior in Hank's solution for New Biomaterial Applications. *Mater. Transact.* **42**: 1777-1780 (2001).
- 池内 健, 清水慶彦, 中村達雄, 富田直秀, 葭仲潔: 磁界による生体内デバイスの方向制御. **医科学応用研究財団研究報告**, 18: 39-42 (2001).
- 石川泰成, 笹田 直, 池内 健: 固液界面近傍における粘度上昇領域の存在 -- 表面ゲル水和潤滑, **生体材料**, 19: 89-92 (2001).
- 葭仲 潔, 世本敏高, 池内 健: 磁場によるカテーテル先端の方向制御に関する研究. **日本 AEM 学会誌**, 9: 15-20 (2001).
- 森 浩二, 岩田博夫, 光藤和明, 池内 健: ステンツの長軸方向の曲げ剛性に関する研究, **日本機械学会論文集(C 編)**, 67: 3078-3082 (2001).
- 渡辺雄祐, 岡 正典, 池内 健, 速水 尚, 玄 丞然, 松村和明, 中村孝志, 牛尾一康, 坂口一彦: 射出成形法により作成した PVA-H の摩耗特性, **日本臨床バイオメカニクス学会誌**, 22: 123-128 (2001).
- 柴田延幸, 富田直秀, 池内 健: UHMWPE 内におけるき裂のシミュレーション -- 第二報: 局所弾性率の影響 --, **日本臨床バイオメカニクス学会誌**, 22: 151-155 (2001).
- 上野 勝, 池内 健: 架橋型ポリエチレンの摩耗特性 -- 摩耗粉による検討 --, **日本臨床バイオメカニクス学会誌**, 22: 157-161 (2001).
- 上野 勝, 池内 健: Alumina 及び Zirconia を組み合わせた人工股関節の Hip Simulator による摩耗特性評価, **日本臨床バイオメカニクス学会誌**, 22: 437-441 (2001).
- 長澤貴司, 関戸 宏, 寺田宏平, 富田直秀, 池内 健: 膝関節半月板のバイオメカニクスに関する研究, **日本臨床バイオメカニクス学会誌**, 22: 309-312 (2001).
- 森 浩二, 池内 健, 光藤和明: 冠動脈ステントの開発, **日本臨床バイオメカニクス学会誌**, 22: 381-387 (2001).

森 浩二, 池内 健, 光藤和明: 感度解析を用いたステントの設計, *日本臨床バイオメカニクス学会誌*, 22: 389-398 (2001).

3) 総 説

森 浩二: ステントの力学特性, *日本機械学会誌*, 12: 820-822 (2001).

◆ 学会等の発表 ◆

1) 学会・研究会発表

池内 健: 冠動脈ステントの設計について, *医工学フォーラム* -- 2000年度特別学術講演会 (2001.2.14 京都)

富田直秀, 原田恭治, 森田有亮, 岡 正典, 池内 健, 玉田 靖, 勝呂 徹, 青木秀之, 脇谷滋之: 荷重組織の再生と材料設計, 第3回生体組織工学シンポジウム, (2001.3.16 吹田市)

Togaya, T., Shinosaki, T., Sueue, K.: Optimization of Laser Beam Parameters for Laser Welding of Titanium, The 5th International Symposium on Titanium in Dentistry (2001.6.30-7.1 千葉)

Tomita, N., Aoki, H., Morita, Y., Wakitani, S., Tamada, Y., Ikeuchi, K., Hattori, K. & Suguro, T.: Reconstruction of Knee Joint Using Total Knee Regeneration System, The 6th International Symposium on Tissue Engineering for Therapeutic Use (2001.10.25-26 大阪)

都賀谷紀宏, 篠崎照泰, 末瀬一彦: 歯科領域におけるレーザー溶接の応用 (第4報) 溶接変形を抑制するための照射条件, 第38回日本歯科技工学会学術講演会 (2001.10.19-20 福岡)

森田有亮, 富田直秀, 青木秀之, 脇谷滋之, 玉田 靖, 勝呂 徹, 池内 健: 軟骨再生過程の粘弾性評価, 第3回生体組織工学シンポジウム, (2001.3.16 吹田市)

森田有亮, 富田直秀, 青木秀之, 脇谷滋之, 玉田 靖, 勝呂 徹, 池内 健: フィブロインを用いて再生された軟骨の粘弾性特性, 第14回再生医工学委員会 (2001.6.22 京都)

森田有亮, 富田直秀, 青木秀之, 脇谷滋之, 玉田 靖, 勝呂 徹, 池内 健: 軟骨再生過程の粘弾性評価, *日本機械学会2001年次大会学術講演会* (2001.8.28-30 福井)

Morita, Y., Yoshida, H., Ikeuchi, K.: Effect of sliding direction on wear properties of ceramics for joint prostheses, 1st Vienna Symposium on Biomechanical Engineering (2nd World Tribology Congress) (2001.9.3-7. Wien)

Morita, Y., Tomita, N., Aoki, H., Wakitani, S., Tamada, Y., Harada, Y., Suguro, T., Ikeuchi, K.: Visco-elastic properties of regenerated cartilage tissue using fibroin sponge, Switzerland-Japan Workshop on "New directions in cellular and tissue biomechanics" (2001.9.24-28. Swiss)

森田有亮: 再生軟骨の粘弾性評価, 第11回生物機械システム研究会 (2001.10.13 京都)

Yoshinaka, K., Sakamoto, R., Ikeuchi, K.: Reduction of insertion resistance by means of vibration for catheters and endoscopes, MICCAI (2001.10.14-17. Utrecht, Netherland)

森田有亮, 富田直秀, 青木秀之, 脇谷滋之, 玉田 靖, 原田恭治, 勝呂 徹, 池内 健: 培養軟骨再生過程における粘弾性特性の変化, 第16回日本整形外科学会基礎学術集会 (2001.10.18-19 広島)

森田有亮, 富田直秀, 池内 健, 青木秀之, 勝呂 徹, 脇谷滋之, 玉田 靖: 軟骨培養過程における粘弾性特性の測定, 第20回日本運動器移植・再生医科学研究会 (2001.10.27 京都)

森田有亮, 富田直秀, 池内 健, 青木秀之, 勝呂 徹, 脇谷滋之, 玉田 靖: 培養軟骨再生過程における動的粘弾

性特性の変化，第28回日本臨床バイオメカニクス学会（2001 .11 .16-17 大阪）

森 浩二，池内 健：超音波による生体組織の力学特性の計測，第3回生体組織工学シンポジウム，（2001 3 .16 吹田市）

森 浩二：超音波による関節軟骨の力学特性の測定，第11回生物機械システム研究会（2001 .10 .13 京都）

Mori, K., Hattori, K., Habata, T., Yamaoka, S., Aoki, H., Morita, Y., Takakura, Y., Tomita, N., K. Ikeuchi, K.: Measurement of the mechanical properties of regenerated articular cartilage using wavelet transformation, The Sixth International Symposium on Tissue Engineering for Therapeutic Use（2001 .10 25-26 . 大阪）

森 浩二，服部耕治，富田直秀，池内 健：超音波を利用した関節軟骨の測定，第12回日本機械学会バイオエンジニアリング学術講演会・秋季セミナー（2001 .10 27-28 名古屋）

森 浩二，富田直秀，池内 健，服部耕治，高倉義典：超音波を利用した関節軟骨の力学特性の測定，第28回日本臨床バイオメカニクス学会（2001 .11 .16-17 大阪）

Hatano, H., Togaya, T.: Relation between Laser Welding Parameters and Properties of Pure Titanium-Comparing among Pure Metals, The First International Meeting on Titanium in Dental Technology (2001.6.30-7.1. Chiba)

Shibata, N., Tomita, N., Ikeuchi, K.: Numerical contact model of delaminating destruction in ultra-high molecular weight polyethylene (UHMWPE) knee component, International Society of Biomechanics _XV th Congress (2001.7.8-13. Zurich, Swiss)

柴田延幸，加藤功二，富田直秀，池内 健：微小硬度法を用いた超高分子量ポリエチレンの粒内／粒界における局所弾性率の評価，第12回日本機械学会バイオエンジニアリング学術講演会・秋季セミナー（2001 .10 27-28 名古屋）

Shibata, N., Tomita, N. & Ikeuchi, K.: Numerical simulation to examine morphogenetic effects of periodical load on cultivated tissue of articular cartilage, FIFTH INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON COMPUTER METHODS IN BIOMECHANICS AND BIOMEDICAL ENGINEERING (2001.10.31-11.3, Roma, Italy)

柴田延幸，御守直樹，富田直秀，池内 健： γ 線照射による超高分子量ポリエチレン（UHMWPE）の劣化がデラミネーション破壊に及ぼす影響，第28回日本臨床バイオメカニクス学会（2001 .11 .16-17 大阪）

篠崎照泰，都賀谷紀宏，末瀬一彦：レーザー溶接パラメーターの決定に関する基礎的研究第4報溶接変形について，日本歯科技工学会第23回学術大会（2001 8 25-26 福岡）

中田健一，森田有亮，吉田秀幸，池内 健：人工関節用ジルコニア／アルミナの摩耗特性，日本機械学会2001年次大会学術講演会（2001 8 28-30 福井）

中田健一，森田有亮，吉田秀幸，池内 健：人工関節用ジルコニア／アルミナの摩耗特性，第28回日本臨床バイオメカニクス学会（2001 .11 .16-17 大阪）

服部耕治，幅田 孝，山岡茂雄，高倉義典，青木秀之，森 浩二，森田有亮，池内 健，富田直秀：超小型トランスデューサーを用いた関節内超音波内視鏡の開発 -- ウェーブレット変換を応用した関節軟骨の評価法 -- ，第27回日本関節鏡学会（2001 9 21-22 札幌）

服部耕治，富田直秀，森浩二，森田有亮，池内 健，青木秀之，幅田 孝，山岡茂雄，高倉義典：超小型トランスデューサーを用いた関節内超音波探触子の開発 -- ウェーブレット変換を応用した関節軟骨・軟骨下骨の評価法 -- ，第16回日本整形外科学会基礎学術集会（2001 .10 .18-19 広島）

Al-Abdullat, Y., Tsutsumi, S. & Ikeuchi, K.: IMPROVEMENT OF CORROSION BEHAVIOR OF PURE MAGNESIUM MODIFIED BY ALKALINE SOLUTIONS FOR NEW BIOMATERIALS, First International

Industrial Engineering Conference (2001.9.23-27. Amman, Jordan)

Aoki, H., Tomita, N., Morita, Y., Ikeuchi, K., Harada, Y., Wakitani, S., Tamada, Y., Suguro, T. : A NEW SCAFFOLD FOR ARTICULAR CARTILAGE REGENERATION MADE OF FIBROIN SPONGE, ISTA 2001 : The 14th Annual Symposium of the International Society for Technology in Arthroplasty (2001.9.26-29. Maui, Hawaii)

青木秀之, 富田直秀, 玉田 靖, 森田有亮, 池内 健, 脇谷滋之, 勝呂 徹 : フィブロインゲルを用いた軟骨再生の試み, 第12回日本機械学会バイオエンジニアリング学術講演会・秋季セミナー(2001.10.27-28 名古屋)

寺田宏平, 竹中 慎, 池内 健, 富田直秀 : 関節荷重下での屈曲・回旋時の膝半月板のバイオメカニクス, 第28回日本臨床バイオメカニクス学会(2001.11.16-17 大阪)

葭仲 潔, 岡崎友樹, 坂本 亮, 池内 健 : 低侵襲医用機器の体内挿入時における摩擦低減機構の開発, 第28回日本臨床バイオメカニクス学会(2001.11.16-17 大阪)

再生医学応用研究部門

組織再生応用分野

Department of Tissue Regeneration

【研究概要】

本研究分野の目標は間葉系組織，特に骨及び軟骨に関する臨床病態に対する基礎研究の展開と臨床応用に直結した治療法の開発である．特に組織再生において重要な因子である細胞増殖及び分化形質の発現機構を，癌細胞における解析をもとに研究を進めることを特色としている．

I．基礎的研究

1) 不死化間葉系幹細胞を用いた組織再生

多くの研究から間葉系組織の再生に，間葉系幹細胞（Mesenchymal stem cell, MSC）が重要な役割を果たしていることが示されてきている．しかしながら MSC 自体に関する基本的情報は極めて乏しい．これは現在用いられている MSC が幹細胞としての基本的性質である自己複製能に乏しく詳細な解析が困難であることに起因する部分が多い．癌細胞における不死化機構の解析により，細胞増殖停止には p16 に代表される細胞周期調節因子の活性化による G0 期導入とテロメア短縮による DNA 複製の停止機構の 2 段階によることが明らかにされている．そこで我々は p16 転写阻害作用をもつ Bmi-1 とテロメラーゼを導入することでヒト MSC の不死化を試み，不死化 MSC の樹立に成功した．クローン化した不死化 MSC の解析により，MSC の多分化能には heterogeneity が存在すること，かつ異なる細胞間での共同作用により多分化能が維持されている可能性があることが判明している．今後はこの不死化 MSC を用いて MSC の本質を解明し，分化方向特異的 MSC の単離のための情報を蓄積し，臨床応用への道を解析していく．

2) 間葉系細胞間及び間葉上皮間での分化転換

以前より癌の発生起源細胞が各組織における幹細胞に近い細胞ではないかという Cancer stem cell という概念が提唱されてきたが，近年の幹細胞研究に伴い，その存在がクローズアップされてきている．胚性幹細胞の癌化形態である胚性癌腫が多分化能を有する細胞であることは言うまでもないが，分化した形質を呈する癌細胞でも多分化能を有することを示すデータが蓄積されてきている．これまでに我々は骨細胞の癌化したものであると考えられてきた骨肉腫の中には，骨と軟骨の双方の形質を発現するものがあり，その発現調節機構にメチル化が関与していることを見いだしている．また軟部肉腫の中で，滑膜肉腫と呼ばれる肉腫では間葉系細胞でありながら上皮組織への分化転換が認められるという特徴を有するが，マイクロアレイを用いた解析により，その分化転換に関わるシグナル伝達機構のキーとなる分子の候補を同定することができた．この間葉上皮分化転換という機構は組織発生を理解するだけでなく，間葉系細胞を用いた上皮組織の再生という命題にも繋がる重要な課題であり，現在その実証を追求している．

II．臨床治療への応用

1) 処理骨再利用による自己組織再生

骨軟骨の病態の中で臨床で，最も問題になるものの一つが，骨腫瘍切除後の広範な骨軟骨欠損である．現在主として金属材料を用いた再建が行われているが，種々の問題点がある．このような欠損に対して自己組織が再生の足場として最も適していることは自明である．そこで，京都大学医学部整形外科との共同研究により，

放射線、液体窒素等による殺腫瘍効果を利用して罹患骨を足場として再利用し、幹細胞を移植することで自己組織による再生を目指している。

2) 人工骨・軟骨複合材料による再生

自己組織による再生を計る一方で、人工材料による骨軟骨再建の研究も必要な課題である。我々は宿主骨へ強固に接着・固定でき、かつ生体適合性も良好な PVA-Titanium 複合材料の開発に成功した。これを用いた臨床応用をまず骨軟骨欠損に対する自家軟骨移植術 (Mosaicplasty) の donor 部位へ使用することから開始し、画像検査、関節鏡および関節液検査等によりその生体適合性を解析する。これらの結果をもとに進行期大腿骨頭壊死症に対する部分表面置換術 (Partial hemiarthroplasty) への応用を目指してデバイスを作成する (本研究は、京都大学医学部附属病院探索医療センターにおける流動研究プロジェクトへ応募して行う)。

(文責 戸口田淳也)

The major objects of our department are to study the molecular mechanism of growth and differentiation of mesenchymal tissue, especially bone and cartilage, and to develop new therapeutic modalities for clinical application. The unique point of our department is to utilize cancer cells as materials to understand the mechanism of tissue regeneration.

I. Basic research

1) Tissue regeneration by immortalized mesenchymal stem cell

Mesenchymal stem cell (MSC) has been shown to play an important role for tissue regeneration in mesenchymal tissues. Basic information concerning the MSC, however, is far from satisfactory, because the MSC has a limited ability for self-renewal, which hinders the detailed investigation. Based on recent progress in cancer research, growth arrest of mammalian cells is performed by two steps: the activation of cell cycle regulator such as p16 and the shortening of telomere. To overcome these regulations, we have introduced the catalytic subunit of human telomerase and the Bmi-1 gene, which is the transcription inhibitor of p16, in the MSC, and succeeded to establish the immortalized MSC. Analyses of clonal immortalized MSC have revealed that the MSC is heterogeneous in terms of multipotentiality and may require the mutual interaction for performing the multidirectional differentiation. Immortalized MSC will be a useful material to further understand the nature of MSC and to develop uni-directional stem cells for clinical application.

2) Transdifferentiation between mesenchymal-mesenchymal cells and mesenchymal-epithelial cells.

It has been proposed that the origin of cancer cells is among the stem cells in each tissue. Recent progress in the stem cell research emphasizes this "cancer stem cell theory". It is a well-known fact that embryonic carcinoma, which derives from the embryonic stem cell, is a multipotent cell line. A number of evidence, however, indicates that cancer cells from differentiated tissues also have a property to differentiate to other type of cells. We have found that some type of osteosarcoma, of which the precursor is a cell in osteoblast-lineage, have characters as chondrocytes cells as well as osteoblasts, and the expression of such characters is regulated by methylation. Epithelial differentiation is a unique property of synovial sarcoma, which is one of soft tissue sarcomas from mesenchymal tissue. Using cDNA microarray analyses, we have isolated a candidate molecule on the signal transduction pathway for this mesenchymal-epithelial transdifferentiation. This finding is important not only for the understanding the mechanism of differentiation but also for the application of mesenchymal cells to regenerate epithelial tissues.

II. Clinical application

1) Regeneration of bone and cartilage using recycle tissues

Among the pathological conditions concerning bone and cartilage tissue, the massive defect due to malignant bone tumors is one of the most problematic issues. Reconstruction using metallic implants is the current choice of treatment, which has a number of problems. The most idealistic material as the scaffold for regeneration is, without saying, the affected bone itself. As a cooperative research with the Department of Orthopaedic Surgery, Kyoto University Hospital, we have invented the approach to “recycle” the affected bone as the scaffold for self-regeneration after the tumoricidal treatments by irradiation or liquid nitrogen in combination with the transplantation of stem cells.

2) Clinical application of artificial osteo-chondral composite material

In addition to the study for tissue regeneration, it is also important to develop suitable artificial materials to reconstruct the bone and cartilage defect. We have developed new polyvinylalcohol-titanium composite that can unite to underlying the host bone firmly and exhibit an excellent biocompatibility in the long-term animal experiments. As the first step for clinical application, we will use this composite material for the osteo-chondral defect at the donor site after Mosaicplasty of human knee joints, and investigate the results by imaging modalities, arthroscopy and also the examination of joint fluid. Based on the results of this initial clinical application, we will perform partial hemiarthroplasty for the patients with advanced stage of aseptic necrosis of femoral head. This research will be performed by applying as the project in the Translational Research Center of Kyoto University Hospital.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

- Yoshii, S., Oka, M., Ikeda, N., Akagi, M., Matsue, Y., Nakamura. T. : Bridging a peripheral nerve defect using collagen filaments. *J. Hand Surg.*, **26-A** : 52-59 (2001).
- Oka, M., Hyon, S.H., Ushio, K., Nakamura, T., Yura. S. : How to repair joint surface. *Tissue Engineering for Therapeutic Use*. Elsevier, pp. 129-137 (2001).
- Oka. M. : Biomechanics and repair of articular cartilage. *J. Orthop. Sci.*, **6** : 448-456 (2001).
- Ohta, M., Hyon, S.H., Kang, Yu-Bong, Murakami, S., Kohjiya, S., Oka, M., Tsutsumi. S. : Effect of the compression ratio on wear properties of slightly cross-linked ultra-high molecular weight polyethylene, crystallized under uniaxial compression. *Wear*, **250** : 145-151 (2001).
- Nishiguchi, S., Kato, H., Fujita, H., Oka, M., Kim, H.M., Kokubo, T. , Nakamura. T. : Titanium metals form direct bonding to bone after alkali and heat treatments. *Biomaterials*, **22** : 2525-2533 (2001).
- Kobayashi, M., Toguchida, J., Oka, M. : Development of the shields for tendon injury repair using Polyvinyl Alcohol-Hydrogel (PVA-H) . *J. Appl. Biomater.*, **58** : 344-351 (2001).
- Kumar, P., Oka, M., Toguchida, J., Kobayashi, M., Uchida, E., Nakamura. T. : Role of uppermost superficial surface layer of articular cartilage in the lubrication mechanism of joints. *J. Anatomy*, **199** : 241-250 (2001).
- 岡 正典 : 人工骨, 軟骨複合材料による軟骨欠損の修復 . *骨・関節・靱帯* , **14** : 825-830 (2001) .
- 岡 正典, 由良茂人 : 人工椎間板の開発 . *関節外科* , **20** : 100-112 (2001) .

- 岡 正典：スポーツ外傷に関連する関節の損傷と修復（関節構成組織の中で最も傷つきやすい組織はなにか）．*京都整形外科医会報*，53：4-8（2001）
- 岡 正典：人工椎間板．*The Bone*，15：487-491（2001）．
- 戸口田淳也：多発性外骨腫（EXT）遺伝子．*整形外科* 52：788（2001）．
- 戸口田淳也：骨軟骨腫とEXT 1 およびEXT 2 遺伝子．*整形・災害外科* 44：984-985（2001）．
- 戸口田淳也，坪山直生，中村孝志，琴浦良彦：仙尾骨脊索腫の治療成績．*中部整災誌*，44：731-732（2001）
- 戸口田淳也，坪山直生，中山富貴，中村孝志：多発癌，多重癌の分子生物学的特性．*骨腫瘍・癌の臨床*，47：277-283（2001）．
- 戸口田淳也，仲俣岳晴，青山朋樹：腫瘍性増殖と組織再生の接点．*遺伝子医学*，5：637-641（2001）．
- 牛尾一康，中村孝志，岡 正典，玄 丞然，速水 尚，由良茂人：犬大腿骨頭部分的表面置換術における Stress Shielding（第2報）．*日本臨床バイオメカニクス学会誌*，22：261-264（2001）．
- 渡辺雄祐，岡 正典，池内 健，速水 尚，玄 丞然，松村和明，中村孝志，牛尾一康，坂口一彦：射出成形法により作成したPVA-Hの磨耗特性．*日本臨床バイオメカニクス学会誌*，22：123-128（2001）．
- 西浦 淳，岡 正典，速水 尚，玄 丞然，松村和明，牛尾一康，中村孝志，坂口一彦：射出成型法により作成したPVA-Hの力学的特性に関する研究．*日本臨床バイオメカニクス学会誌*，22：129-134（2001）．
- 光成淳史，坂口一彦，岡 正典，速水 尚，中村孝志：大腿骨頭部骨折の生力学的研究（第3報）．*日本臨床バイオメカニクス学会誌*，22：265-268（2001）．
- 武田 聡，坂口一彦，岡 正典，玄 丞然，速水 尚，森田有亮，戸口田淳也，牛尾一康：ポリフェノールによる関節軟骨保存の研究．*日本臨床バイオメカニクス学会誌*，22：11-16（2001）．
- 高木順平，岡 正典，堤 定美，吉田宏昭，福田秀章，中村孝志，藤田 裕，牛尾一康：bioactive 骨セメント使用におけるstress shieldingの研究（第2報）．*日本臨床バイオメカニクス学会誌*，22：73-77（2001）．
- 谷山和宏，坂口一彦，岡 正典，由良茂人，玄 丞然，速水 尚，中村孝志：犬用人工椎間板の力学的特性評価（第3報）．*日本臨床バイオメカニクス学会誌*，22：109-115（2001）．
- 久田祥博，速水 尚，児島忠倫，岡 正典，由良茂人，玄 丞然：人工椎間板の疲労強度特性（第2報）--せん断・曲げ荷重に対する疲労寿命--．*日本臨床バイオメカニクス学会誌*，22：117-122（2001）
- Oya, N., Kokubo, M., Mizowaki, T., Shibamoto, Y., Nagata, Y., Sasai, K., Nishimura, Y., Tsuboyama, T., Toguchida, J., Nakamura, T., Hiraoka, M.: Definitive intraoperative very high-dose radiotherapy for localized osteosarcoma in the extremities. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 51: 87-93 (2001) .
- Murakami, H., Nakayama, T., Nishijo, K. Hosaka, T., Nakamata, T., Aoyama, T., Okamoto, T., Tsuboyama, T., Nakamura, T., Toguchida, J.: Morphological and biological heterogeneity of three tumorigenic cell lines derived from a single p53-1-osteoblast cellline, MMC2. *Cancer Letters*, in press.

◆ 学会等の講演 ◆

1) 学会・研究会発表

- 伊藤裕美，戸口田淳也，坪山直生，柿木良介，村上 弘，中村孝志，真多俊博，飯田寛和：多発性外骨腫に続発した腸骨軟骨肉腫の1症例．第366回京阪神整形外科集談会（2001.1.20 大阪）
- 青山朋樹，仲俣岳晴，岡本 健，中山富貴，坪山直生，中村孝志，戸口田淳也：p53-/-マウスからの軟骨細胞系

の樹立．第5回日本軟骨代謝学会（2001 3 8 岐阜）

青山朋樹，長山 聡，村上 弘，山本博史，保坂泰介，仲俣岳晴，岡本 健，中山富貴，坪山直生，中村孝志，戸口田淳也：軟骨肉腫における NFAT 1 遺伝子の変異解析．第34回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会（2001 7 .19 宇都宮）

青山朋樹，長山 聡，岡本 健，保坂泰介，仲俣岳晴，西庄功一，中山富貴，中村孝志，戸口田淳也：軟骨肉腫における NFAT 1 遺伝子の変異解析．第60回日本癌学会（2001 9 27 横浜）

青山朋樹，仲俣岳晴，岡本 健，中山富貴，中村孝志，戸口田淳也：p53-/-マウスからの関節軟骨由来軟骨細胞株の樹立．第16回日本整形外科学会基礎学術集会（2001 .10 .18 広島）

Aoyama, T., Nagayama, S., Okamoto, T., Hosaka, T., Nakamata, T., Nishijo, K., Nakayama, T., Nakamura, T., Toguchida, J.: The mutation analysis of NFAT1 in chondrosarcoma. 7th Annual Connective Tissue Oncology Society Conference (2001.11.2 Palm Beach)

村上 弘，仲俣岳晴，中山富貴，保坂泰介，山本博史，青山朋樹，岡本 健，坪山直生，中村孝志，戸口田淳也：マウス骨芽細胞の悪性化に関わる癌遺伝子のクローニング．第34回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会（2001 7 .19 宇都宮）

中山富貴，鹿江 寛，坪山直生，戸口田淳也，中嶋安彬，田中千晶，四方実彦，琴浦良彦，中村孝志：術中照射後に発生した骨肉腫の2例．第34回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会（2001 7 .19 宇都宮）

中山富貴，村上 弘，中村孝志，戸口田淳也：p53欠損マウス骨芽細胞からの骨肉腫細胞の確立．第60回日本癌学会（2001 9 26 横浜）

仲俣岳晴，村上 弘，中山富貴，山本博史，保坂泰介，青山朋樹，岡本 健，中村孝志，戸口田淳也：骨芽細胞の形質転換に関与する新規癌遺伝子の単離．第34回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会（2001 7 .19 宇都宮）

仲俣岳晴，村上 弘，青山朋樹，中山富貴，保坂泰介，岡本 健，西庄功一，中村孝志，戸口田淳也：骨肉腫発癌過程に関与する新規癌抑制遺伝子の単離．第60回日本癌学会（2001 9 28 横浜）

朝田尚宏，土屋弘行，山本憲男，富田勝郎，長山 聡，戸口田淳也：家族性骨肉腫の1家系の報告 -- p53遺伝子の塩基配列の解析から．第34回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会（2001 7 .19 宇都宮）

保坂泰介，鹿江 寛，中山富貴，村上 弘，山本博史，仲俣岳晴，青山朋樹，岡本 健，中嶋安彬，中村孝志，坪山直生，戸口田淳也：粘液型脂肪肉腫における CHOP 関連融合遺伝子の臨床病理学的・生物学的解析．第34回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会（2001 7 .19 宇都宮）

保坂泰介，中山富貴，仲俣岳晴，青山朋樹，岡本 健，西庄功一，中村孝志，戸口田淳也：粘液型脂肪肉腫における CHOP 関連融合遺伝子の臨床病理学的及び生物学的解析．第60回日本癌学会（2001 9 27 横浜）

戸口田淳也，坪山直生，中山富貴，中嶋安彬，中村孝志：四肢発生骨肉腫 M 1 症例の臨床像．第34回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会（2001 7 20 宇都宮）

戸口田淳也，長山 聡，中村祐輔，中山富貴，坪山直生，中村孝志骨軟部腫瘍とゲノム解析．第16回日本整形外科学会基礎学術集会（2001 .10 .18 広島）

長山 聡，片桐豊雄，戸口田淳也，中村祐輔：cDNA マイクロアレイを用いた軟部肉腫の発現遺伝子プロファイルの解析．日本癌学会（2001 9 27 横浜）

Okamoto, T., Hosaka, T., Nakashima, Y., Kusuzaki, K., Nakamata, T., Aoyama, T., Nishijo, K., Nakamura, T., Toguchida, J.: Novel type of EWS-CHOP fusion genes in two cases of liposarcomas with aggressive clinical

features and atypical histopathologic findings. 7th Annual Connective Tissue Oncology Society Conference (2001.11.2 Palm Beach)

2) 講演・シンポジウム等

岡 正典：関節軟骨の修復 21世紀の人工臓器と再生医療，日本高分子学会（2001 2 8 東京）

岡 正典：関節潤滑に及ぼす高分子ヒアルロン酸の影響．骨・関節研究会（2001 2 .10 京都）

Toguchida, J. : SV40-like sequences detection in tumor and PBCs in osteosarcoma patients. Malignant mesothelioma-Therapeutic options and role of SV40 : An update. (2001.4.21 Chicago)

Toguchida, J., Nakayama, T., Murakami, H., Okamoto, T., Aoyama, T., Nakamura, T., Oka, M. : Establishment of bone and cartilage-derived cell lines from p53-/- mice. Symposium on Tissue Engineering : National Taiwan University & Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University(2001.1.20 Kyoto)

戸口田淳也：骨軟部腫瘍におけるヒトゲノム情報の応用．第97回中部日本整形外科災害外科学会・教育研修講演（2001 .10 .12 岐阜）

器官形成応用分野 Department of Organ Reconstruction

【研究概要】

本分野の主たる研究テーマは膵島再生医療の開発である．

わが国における糖尿病治療は依然としてインスリンによる対症療法が中心であり，Alberta 大学で実施された膵島細胞の門脈内移植が素晴らしい成績を収め，根治的治療法として世界的に注目されているのとは格段の隔たりを感じざるを得ない．ところが，Alberta 大学の方法は脳死ドナーからの移植であるため，インスリンからの離脱はできても，絶対的なドナー不足，免疫抑制剤の永久的な服用による易感染性・癌の発生や患者の経済的負担，など解決すべき問題点は多い．

このような観点から，われわれはこれらの問題点を解決すべく免疫隔離膜と膵島細胞を組み合わせたカプセル化膵島を開発に主眼をおいた研究をすすめている．すなわち，移植に用いる細胞の大量かつ安定的確保，移植細胞の免疫系から隔離する免疫隔離膜の作製を含めた移植細胞の長期生着・機能発揮のための検討，また，より簡便で低侵襲な移植部位と方法に関する検討を，基礎研究から移植実験に至るまでの，幅広い領域で展開し，糖尿病の根本的治療としての膵島再生医療の確立をめざしている．

1．移植に用いる細胞の安定的確保

倫理的抵抗感が比較的少なく，多産系で繁殖性に問題がなく安定的なドナー確保が可能で，しかも血液生化学的な数値がヒトに近似し，ヒトインスリンとの相同性も極めて高いブタの膵島の安定かつ多量の分離を確立し，移植におけるバイオリクターとしての有効性を確認している．また，マウス ES 細胞からインスリン分泌細胞への分化誘導にも成功しており，移植実験においても血糖の低下が確認でき，バイオリクターとしての有効性も期待できる．

2. 移植細胞の長期生着・機能発揮のための検討

膵島細胞移植において、移植後の炎症反応や免疫応答により移植細胞な生着が阻害されたり、機能が低下する障害に対し、移植細胞の支持体に免疫隔離能をもった物質を選択し、すでにアガロースを用いたマイクロビーズやアガロースとポリエチレンスルホン酸 (PSSa) に封入した膵島細胞の移植後の長期生着・機能維持を確認している。また、同系移植、同種移植、異種移植時の動員される免疫系細胞群の動態や炎症関連分子群の挙動の解析もおこなっている。

3. 移植部位と方法に関する検討

皮下移植は極めて低侵襲・簡便な移植法で、必要に応じ回収交換が容易であり、技術的にはどこの施設でも治療は可能である。われわれは小動物においては血管新生誘導技術の向上と相まって世界初のカプセル化膵島皮下移植で好成績をあげる段階にまで展開している。現在はヒトへの臨床応用に向けて、大動物における皮下移植実験をおこなっている。



マウス ES 細胞から分化誘導させた細胞のインスリン染色

The result of islet transplantation in the liver via portal vein of islets in Alberta University gets much attention as a fundamental therapy of diabetes mellitus. Allopathic treatment with insulin administration is, however, still main therapy of diabetes mellitus in Japan. There is no denying the impression that the excellent result in Alberta University, is far off the present allopathic treatment in our country. Since this method of transplantation is from brain death donors, there are many problems to resolve in spite of achievement of insulin-independence. Those are, absolute shortage of donor organ, liability to infection, possibility of cancer occurrence, and expenses.

From these viewpoints, we have mainly investigated the development of bioartificial pancreas, which combines isolated pancreas islet and immunosolatory membrane, to establish pancreas islet regenerative medicine as an universal and fundamental therapy for diabetes mellitus. In detail, we have been studying a basic research and experimental transplantation in large amount of and stable preparation of islet for transplantation, examination of long-term survival and functioning of transplanted cell including preparation of immunosolatory membrane, and demonstrating the method which adjustment of lower-invasive transplantation site and procedure.

1. Large amount of and stable preparation of islet (pancreas endocrine cells) for transplantation

We have established the procedure on preparation of the islet from adult porcine and endocrine cells from young adult mature porcine, and have recognized the efficacy as a bio-reactor on transplantation to the experimental diabetic animals. The utility of porcine pancreas is very high because of less ethical problem, high procreative power, similar biochemical data in blood to human being, molecular similarity to human insulin. We also succeeded the differentiation and proliferation from embryonic stem cells of mice to insulin secreting cells which had the blood glucose in experimental diabetic mice decrease. This insulin secreting cells may have the efficacy as a bio-reactor on transplantation.

2. Examination of long-term survival and functioning of transplanted cell

Both inflammatory reaction and immune reaction after islet (pancreas endocrine cell) transplantation inhibit the

successful transplantation and cell function. As respects these difficulties, we have observed the long-term function of transplanted islet encapsulated by agarose and agarose with polystyrene sulfonic acid (PSSa) using supporting materials. The analysis of the role of immunocompetent cell and inflammation related molecules during auto-, allo-, and xenotransplantation has been performing.

3. Investigation of transplantation sites and methods

Subcutaneous transplantation has many benefits of minimum procedure, easy transplantation, and the possibility of removal and reloading islets (endocrine cells) if necessary. Although subcutaneous site is poor in vascularity, angiogenesis mainly using basic fibroblast growth factor can make the subcutaneous tissue become a transplantable site. We achieved that subcutaneous xenotransplantation of encapsulated islet normalized blood glucose level in diabetic animal, that is the first success in the world. Now, we have investigated the application of subcutaneous transplantation to large animals on the clinical trials.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

- Kawakami Y., Iwata H., Gu Y.J., Miyamoto M., Murakami Y., Yamasaki T., Cui W.X., Ikada Y., Imamura M. & Inoue K. : Modified subcutaneous tissue with neovascularization as the site for pancreatic islet transplantation. *Cell Transplant* **9** : 729-732, (2001).
- Kinoshita N., Echigo Y., Shinohara S., Gu Y.J., Miyazaki J., Inoue K., and Imamura M. : Regulation of cell proliferation using tissue engineering in MIN6cells. *Cell Transplant* **10** : 473-477, 2001
- Miyamoto M., Balamurugan A.N., Morimoto Y., Nozawa Y., Sakurai T., Xu B.Y., Yoshimura S., Tanaka T., Tohyama T. & Inoue K. : Development of cryopreservation procedure of freezer bag for pancreatic islets using newly developed cryoprotectant. *Cell Transplant* **10** : 363-371 (2001).
- Wang W.J., Gu Y.J., Miyamoto M., Hori H., Nagata N., Balamurugan A.N. & Inoue K. : Effect of basic fibroblast growth factor on insulin secretion from micro-encapsulated pancreatic islets ; An in vitro study. *Cell Transplant* **10** : 465-471 (2001).
- Hori H., Gu Y.J., Nagata N., Balamurugan A.N., Satake A., Morimoto Y., Wang W.J., Misawa Y., Nozawa Y., Nemba T., Miyamoto M., Nozawa M. & Inoue K. : Isolation, culture and characterization of endocrine cells from six-months-old porcine pancreas. *Cell Transplant* **10** : 459-464 (2001).
- Gu Y.J., Tabata Y., Kawakami Y., Balamurugan A.N., Hori H., Nagata N., Satake A., Cui W.X., Qi R.M.G, Misawa Y., Toma M., Miyamoto M., Nozawa M. & Inoue K. : Development of a new method to induce angiogenesis at subcutaneous site of streptozotocin-induced diabetic rats for islet transplantation. *Cell Transplant* **10** : 453-457 (2001).
- Cui W.X., Kim D.H., Imamura M., Hyon S.H. & Inoue K. : The tissue-engineering pancreatic islets : Culturing the rat islets in the chitosan sponge. *Cell Transplant* **10** : 499-502 (2001).
- Nagata N., Gu Y.J., Hori H., Balamurugan A.N., Toma M., Kawakami Y., Wang W.J., Satake A., Misawa Y., Baba T., Miyamoto M., Nozawa M., Tabata Y. & Inoue K. : Evaluation of insulin secretion of isolated rat islets cultured in

extracellular matrix. *Cell Transplant* **10** : 447-451 (2001).

Xu B.Y., Gu Y.J., Miyamoto M., Balamurugan A.N., Cui W.X., Imamura M., Iwata H. & Inoue K.: The influence of anticomplement synthetic sulfonic polymers on function of pancreatic islets : an in vitro study. *Cell Transplant* **10** : 413-417 (2001).

Xu B.Y., Iwata H., Gu Y.J., Balamurugan A.N., Murakami Y., Cui W.X., Imamura M., & Inoue K.: Functional comparison of the agarose microbeads and the developed three layer agarose microbeads as the bioartificial pancreas : An in vitro study. *Cell Transplant* **10** : 403-408 (2001).

Kawakami Y., Iwata H., Gu Y.J., Miyamoto M., Murakami Y., Balamurugan A.N., Imamura M. & Inoue K.: Successful subcutaneous pancreatic islet transplantation using angiogenic growth factor releasing device. *Pancreas* **23** : 375-378(2001).

Wang W.J., Gu Y.J., Tabata Y., Miyamoto M., Hori H., Nagata N., Toma M., Balamurugan A.N., Kawakami Y., Nozawa M. & Inoue K.: Reversal of diabetes in mice by xenotransplantation of bioartificial pancreas in a prevascularized subcutaneous site. *Transplantation* (in press)

堀 洋, 顧 元駿, 井上一知: 6 人工臓器ハイブリッド型人工臓器の現状. *外科* **63** : 311-317 (2001).

顧 元駿, 堀 洋, 井上一知: 再生医学における膵細胞の分離・移植法. *Surgery Frontier 実験講座* **57** : 8 : 316-322 (2001).

日裏彰人, 井上一知: 消化器外科と再生医学. *消化器外科* **24** : 1653-1661 (2001).

櫻井智徳, 顧 元駿, 井上一知: 人工膵臓研究の再先端. *臨床外科* **56** : 27-33 (2001).

2) 著書及び総説

日裏彰人, 井上一知: 肝胆膵領域の再生医学. *Tissue Engineering -- 再生医療に幕開け -- . 医薬の門* **41** : 636-643 (2001).

櫻井智徳, 井上一知: 人工膵臓. *小児科診療* **61** : 2201-2206 (2001).

堀 洋, 井上一知: 再生医学の課題と将来展望 -- 特に膵島再生医療を中心に. 特集再生医学を展望する. *新医療* **28** : 134-138

顧 元駿, 長田奈津紀, 櫻井智徳, 井上一知: 膵臓の再生. 先端医療シリーズ *消化器疾患 消化器疾患の最新医療* pp .178-182 2001

◆ 学会等の講演 ◆

1) 学会・研究会発表

顧 元駿, 堀 洋, 田畑泰彦, 長田奈津紀, 櫻井智徳, 金 度勳, 奇 梅日更, 王 文敬, 三澤裕子, 佐竹 晃, 井上一知: バイオ人工膵におけるコラーゲンコーティングによる血管新生誘導能に関する検討. 第28回膵膵島移植研究会 (2001 3 3 奈良)

顧 元駿, 堀 洋, 王 文敬, 奇 梅日更, 金 度勳, 櫻井智徳, 佐竹 晃, 日裏彰人, 井上一知: プタ膵内分泌細胞を用いたバイオ人工膵移植に関する検討. 第37回日本移植学会総会 (2001 .12 .16 東京)

三澤裕子, 堀 洋, 顧 元駿, 長田奈津紀, 藤間真紀, 王文敬, 森反俊幸, 野澤真澄, 井上一知: プタ膵臓由来内分泌細胞単離法の改良と移植応用性の検討. 第28回膵膵島移植研究会 (2001 3 3 奈良)

三澤裕子, 堀 洋, 顧 元駿, 長田奈津紀, 藤間真紀, 森反俊幸, 野澤真澄, 井上一知: プタ膵内分泌細胞分離・培養法の改良に関する検討. 第9回細胞療法研究会(2001.4.21 松本)

宮本正章, 井上一知: 膵島移植の将来展望. 第9回細胞療法研究会シンポジウム(2001.4.21 松本)

櫻井智徳, 顧 元駿, 川上義行, 堀 洋, 長田奈津紀, 藤間真紀, Balamurugan AN., 金度勳, 佐竹晃, 田畑泰彦, 野澤真澄, 井上一知: 血管新生誘導能を有するバイオ人工膵の開発. 第101回日本外科学会総会(2001.4.11 仙台)

櫻井智徳, 顧 元駿, 堀 洋, 長田奈津紀, 藤間真紀, 金 度勳, 佐竹 晃, 宮本正章, 田畑泰彦, 野澤真澄, 井上一知: バイオ人工膵皮下移植における血管新生誘導法の検討. 第9回細胞療法研究会(2001.4.21 松本)

森元良彦, 顧 元駿, 堀 洋, 長田奈津紀, 藤間真紀, 三澤裕子, 野澤真澄, 井上一知: 培養プタ膵内分泌細胞の移植応用. 第101回日本外科学会総会(2001.4.11 仙台)

王 文敬, 顧 元駿, 田畑泰彦, 宮本正章, 堀 洋, 長田奈津紀, 藤間真紀, Balamurugan AN., 川上義行, 岩田博夫, 野澤真澄, 井上一知: Xenotransplantation of agarose hydrogel-based bioartificial pancreas into neovascularized subcutaneous site of mouse. 第9回細胞療法研究会(2001.4.21 松本)

佐竹 晃, 顧 元駿, 井上一知: バイオ人工膵臓による皮下・筋肉間同種移植の検討; 血管誘導処置の効果. 日本膵臓学会第32回大会ワークショップ(2001.7.13 北九州)

佐竹 晃, 顧 元駿, 王 文敬, 宮本正章, 佐竹克介, 野澤真澄, 井上一知: 再生医学的手法によるバイオ人工膵移植の検討. 第56回日本消化器外科学会総会シンポジウム消化器外科領域の再生医学(2001.7.26 秋田)

Satake A., Gu Y.J., Balamurugan AN, Hori H, Nagata N, Touma M, Sakurai T, Misawa Y, Kim DH, Cui WX, Wang W.J, Miyamoto M, Satake K, Nozawa M, and Inoue K.: Surgical and function of the transplants islet-allograft at prevascularized subcutaneous and intermuscular site; effectiveness of angiogenesis induction. International Surgical Week2001 (2001.8.28, Brussels)

佐竹 晃, 網 政明, 日裏彰人, 井上一知: 胃切除後約40年経過し発症した腸重積の一例. 第63回日本臨床外科学会総会(2001.10.12 横浜)

Satake A., Wang W.J, Gu Y.J., Hiura A, Satake K, and Inoue K: Xenotransplantation of encapsulated islets into prevascularized subcutaneous site. American Pancreatic Association (2001.11.2. Chicago)

日裏彰人, 佐竹 晃, 宮本正章, 佐竹克介, 井上一知: バイオ人工膵の皮下移植 -- 臨床応用に向けて -- . 第63回日本臨床外科学会総会特別シンポジウム321世紀の移植医療 -- わが国における展望 -- (2001.10.11 横浜)

日裏彰人, 井上一知: 膵島再生医療の開発. 第4回移植遺伝子工学研究会シンポジウム⁽²⁾膵の再生医学(2001.12.15 東京)

堀 洋, 顧 元駿, 王 文敬, 櫻井智徳, 金 度勳, 佐竹 晃, 日裏彰人, 長田奈津紀, 野澤真澄, 井上一知: プタ膵内分泌細胞分離・培養法の改良に関する検討. 第74回日本生化学会大会(2001.10.27 京都)

Gu Y.J., Hiura A, Hori H., and Inoue K.: Regenerative islet therapy for diabetes mellitus. 6th International Conference on Tissue Engineering for Therapeutic Use (2001.11.25. Osaka)

2) 講演・シンポジウム

井上一知: 再生医学と消化管ホルモン. 第23回 GUT HORMONE CONFERENCE (2001.7.21 静岡)

井上一知: 再生医療の最近の動向と将来の展望. 京都外科医会例会(2001.7.21 京都)

井上一知：再生医療について．府中地区医師会学術講演会（2001.8.17 広島）

井上一知：再生医療の最近の動向と展望 群馬再生医療について．第7回新潟消化器障害研究会（新潟県医師会生涯教育講座）（2001.9.29 新潟）

井上一知：再生医療の現状と将来展望．平成13年度関西医科大学産科学婦人科学教室同門会症例検討会ならびに第18回大阪産婦人科医会河北地区研修会（2000.10.20 大阪）

井上一知：21世紀，糖尿病になおる時代はくるのか？平成13年京都糖尿病週間講演会 講演21世紀の糖尿病（2001.11.4 京都）

井上一知：再生医療の現況と将来展望．山梨県官公立病院協議会研修会（2001.11.7 山梨）

井上一知：「移植・再生医学」群馬再生医療の展望．第75回北海道癌談話会 秋季シンポジウム（2001.11.17 北海道）

日裏彰人：消化器領域の再生医療．日本消化器病学会近畿支部第7回教育講演会（2001.11.10 京都）

臓器再建応用分野

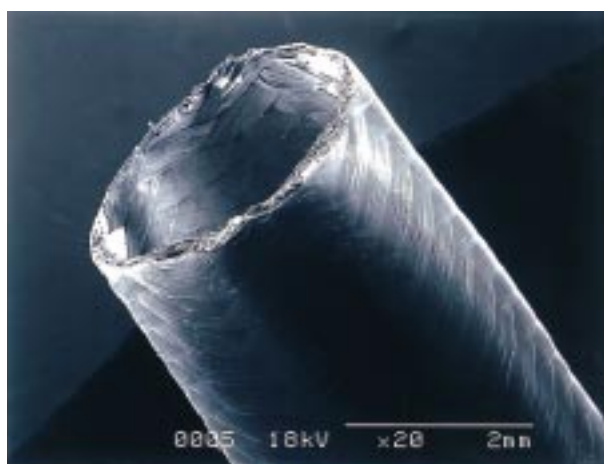
Department of Bioartificial Organs

【研究概要】

臓器再建応用分野の研究目的は，全身のあらゆる組織，臓器を対象とした再生医療であります．自己の細胞が増殖，分化できる足場となる適切な環境を体内に与えることによって，自己の臓器が本来の構造と機能を取り戻して再生復元することを目指しています．

これによって，現在治療法がない難病患者，人工臓器で延命中の患者，或いは移植ドナーの不足のために死亡している症例の多くが救われます．また，高騰を続ける医療費が激減することが予想されます．

研究の方法としては，再生医学の3つの柱である⁽¹⁾足場，⁽²⁾細胞，⁽³⁾活性因子，を生体内で働かせる in situ Tissue Engineering を中心に研究を進めています．すなわち，同種・異種の臓器や組織から酵素で分解・抽出して完全に免疫原性をなくした材料から再構成した細胞外マトリックス，或いは Detergent で細胞を完全に除去した細胞外マトリックス，生体内で穏和に分解吸収される合成高分子，各種の細胞の増殖成長因子などの材料 DDS（薬物送達システム）を組み合わせ，欠落した組織や臓器の再生する足場となる枠組み（細胞外マトリックス）を生体内に作ります．この枠組みを足場として利用して，生体内の幹細胞が増殖，分化し，自己の組織や臓器が再生復元されます．また，幹細胞の分離・増殖を行い組織再生に用いる研究や瘢痕状になった細胞外マトリックスを融かして，再び本来の細胞外マトリックスに戻す研究も進めています．



人工神経管の走査電子顕微鏡写真
PGA 繊維製のチューブにコラーゲン加工してある．
内腔が末梢神経の再生の足場となるよう設計されている．

現在行っている研究内容は下記のように分類されます．

- ① 角膜，心膜，胸膜，腹膜，脳硬膜などの膜系
- ② 血管，気管，消化管などの管状臓器
- ③ 外力の加わる組織（永久歯，歯根膜）
- ④ 末梢神経，脊髄などの神経系
- ⑤ 泌尿器系
- ⑥ 肝臓，甲状腺，上皮小体，脾臓などの実質性代謝臓器
- ⑦ 脂肪組織や筋肉組織や，その他軟組織
- ⑧ この他に人工臓器の開発や造影剤の研究，バイオマテリアルの研究

当分野の研究は，細胞が増殖，再分化して，元の臓器を復元させる仕組み（環境）を人工的に体の中に作れば，哺乳動物の臓器や組織もいもりのように再生復元するというメカニズムを医学に応用するものです．このような in situ Tissue Engineering は世界に先駆けて我々が提称してきた方法であり，次世代の医療の中心的柱になると考えられます．

In situ Tissue Engineering : We have devised a completely new approach to the development of artificial organs. The main procedure using tissue engineering for tissues and internal organs involves the removal of the cell component from auto-or allo-organs to obtain only the extracellular matrix, so-called refined extracellular matrix (ECM) and reconstitutes the solid structure from the extracted collagen. This ECM or reconstituted structure is then employed as scaffolding, which after implantation into the patients is used for the regeneration or re-differentiation of tissue. Organs made of self-cells thus regenerate. Organs that regenerate in this manner not only possess highly differentiated tissue structures, but also show functional recovery, because all the cells are derived from the patients themselves. Whether or not our new method is practicable will depend mainly on the intrinsic regeneration capacity of each tissue. Up to now, in higher mammals including man, it has been believed that highly differentiated organs lose their ability to regenerate. We consider that mammals do not, in fact, lose this potential, and that the potential is hidden by excessively rapid wound healing around the failing tissues. In this sense, if we can provide good conditions using refined ECM, we can induce this hidden potential even in higher mammals. We have already carried out successful trials at regenerating peripheral nerves, the esophagus, the trachea, and blood vessels with this method. A similar method is also applicable to other soft tissue organs such as the liver, heart, and lung, as well as the spinal cord. These results will be welcomed by patients who are dependent on palliative life-support systems, or transplantation candidates who are waiting for suitable donors. An additional benefit is that patients will be freed from the side effects of immunosuppressive drugs. The judgment of the brain death can then be discussed separately from the issue of transplantation, and will become a personal problem. Further more, this new approach help to reduce ever-expanding medical costs, which are in danger of destroying our health insurance system in the near future.

No study based on these concepts has ever been done either in Japan or abroad. In this sense, our pioneering work is expected to be a major area of medical science for the coming generation.

Strategy and targets of our study

The target organs currently being considered for this development project are the heart, heart valves, esophagus,

stomach, intestine, gallbladder, trachea, lung, liver, kidney, peripheral nerves, spinal cord, cornea, tendons, ligaments, cartilage, bone, fatty tissue, periodontal tissue, and permanent teeth. We plan to employ the two major methods as described below.

ECM Method

To obtain the purified extracellular matrix, cell components are completely removed from homo or allo-organs. The solid structure is reconstituted from the ECM and extracted collagen. Growth factors are then applied to facilitate cell proliferation. Then this ECM-collagen-growth factor composite is implanted into the living body as a temporary scaffolding for new organ regeneration. Besides this, bioabsorbable materials will also be applied instead of purified ECM as a bulk structure for organ regeneration. Both extracted collagen and growth factors should facilitate cell proliferation and cell redifferentiation, leading to regeneration of organs completely composed of cells derived from patients.

Cell+ECM Method

Cells (or living tissues) of patients are complexed (mixed) with purified ECM or bioabsorbable material. Using this complex, reconstruction of the failing tissues or organs will be attempted. Mesenchymal stem cell (MSC) obtained from the bone marrow is now applied to this method.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

- Nakamura, T., Ueda, H., Tsuda, T., Li, YH., Kiyotani, T., Inoue, M., Matsumoto, K., Sekine, T., Liu, Y., Hyon, SH., Shimizu, Y. : Long-term implantation test and tumorigenicity of polyvinyl alcohol hydrogel plates. *J Biomed Mater Res* **56** : 289-96 (2001).
- Nakamura, T., Fukuda, K., Hayakawa, K., Aoki, I., Matsumoto, K., Sekine, T., Ueda, H., Shimizu, Y. : Mechanism of burn injury during magnetic resonance imaging (MRI) - simple loops can induce heat injury. *Front Med Biol Eng* **11** : 117-29 (2001).
- Iwakura, A., Tabata, Y., Tamura, N., Doi, K., Nishimura, K., Nakamura, T., Shimizu, Y., Fujita, M., Komeda, M. : Gelatin sheet incorporating basic fibroblast growth factor enhances healing of devascularized sternum in diabetic rats. *Circulation* **104** (12suppl1) : 1325-1329 (2001).
- Iwakura, A., Fujita, M., Hasegawa, K., Shinnya, T., Nohara, R., Sasayama, S., Komeda, M. : Pericardial fluid from patients with ischemic heart disease induces myocardial cell apoptosis via an oxidant stress-sensitive p38 mitogen-activated protein kinase pathway. *J Mol Cell Cardiol* **33** : 419-430 (2001).
- Ueda, H., Hong, L., Yamamoto, M., Shigeno, K., Inoue, M., Toba, T., Yoshitani, M., Nakamura, T., Tabata, Y., Shimizu, Y. : Use of collagen sponge incorporating transforming growth factor- β 1 to promote bone repair in skull defects in rabbits. *Biomaterials* **23** : 1003-1010 (2001).
- Kawaguchi, S., Nakamura, T., Shimizu, Y., Masuda, T., Takigawa, T., Liu, Y., Ueda, H., Sekine, T., Matsumoto, K. :

- Mechanical properties of artificial tracheas composed of a mesh cylinder and a spiral stent. *Biomaterials* **22** : 3085-3090 (2001).
- Kobayashi, H., Sekine, T., Nakamura, T., Shimizu, Y. : In vivo evaluation of a new sealant material on a rat lung air leak model. *J Biomed Mater Res* **58** : 658-665 (2001).
- Shimizu, M., Higuchi, K., Kasai, S., Tsuboyama, T., Matsushita, M., Mori, M., Shimizu, Y., Nakamura, T., Hosokawa, M. : Chromosome 13 locus, Pbd2, regulates bone density in mice. *J. Bone Miner Res.* **16** : 1972-1982 (2001).
- Toba, T., Nakamura, T., Shimizu, Y., Matsumoto, K., Ohnishi, K., Fukuda, S., Yoshitani, M., Ueda, H., Hori, Y., Endo, K. : Generation of canine peroneal nerve with the use of a polyglycolic acid-collagen tube filled with laminin-soaked collagen sponge : A comparative study of collagen sponge and collagen fibers as filling materials for nerve conduits. *J Biomed Mater Res* **58** : 622-630 (2001).
- Toba, T., Nakamura, T., Matsumoto, K., Fukuda, S., Yoshitani, M., Ueda, H., Hori, Y., Shimizu, Y. : Influence of dehydrothermal crosslinking on the growth of PC-12 cells cultured on laminin-coated collagen. *ASAIO J* (in press).
- 藤川孝満, 山崎敦, 木村智子, 清水慶彦, 遠藤克昭, 田里 博, 野村泰伸, 佐藤俊輔 : 三次元位置システムによる人工材料を用いた再生過程の評価 . *J Clin Physic Ther* **3** : 17-22 (2001).
- 藤川孝満, 清水慶彦, 遠藤克昭, 野村泰伸, 佐藤俊輔 : PGA -- コラーゲンチューブによる末梢神経再生の評価 . *J Clin Physic Ther* **3** : 27-29 (2001).
- 藤川孝満, 中村達雄, 清水慶彦, 大西克則, 遠藤克昭, 松本和也, 野村泰伸, 佐藤俊輔 : ポリグリコール酸(PGA) -- コラーゲン複合チューブによる末梢神経再生の評価とリハビリテーションの検討 . *滋賀県理学療法士会会誌* **21** : 50-55 (2001). (社)滋賀県理学療法士会
- Hori, Y., Nakamura, T., Matsumoto, K., Kurokawa, Y., Satomi, S., Shimizu, Y. : Experimental study on in situ tissue engineering of the stomach by acellular collagen sponge scaffold grafting. *ASAIO J* **47** : 206-210 (2001).
- Hori, Y., Nakamura, T., Kurokawa, Y., Satomi, S., Shimizu, Y. : Experimental study on tissue engineering of the small intestine by acellular collagen sponge scaffold grafting. *Int J Artif Organs* **24** : 50-54 (2001).
- Hori, Y., Nakamura, T., Kimura, D., Kaino, K., Kurokawa, Y., Satomi, S., Shimizu, Y. : Experimental study on tissue engineering of the small intestine by mesenchymal stem cell seeding. *J Surg Res* (in press).
- Matsumoto, K., Nakamura, T., Fukuda, S., Sekine, T., Ueda, H., Shimizu, Y. : A gelatin coated collagen-polyglycolic acid composite membrane as a dural substitute. *ASAIO J* **47** : 641-645 (2001).
- Liu, Y., Nakamura, T., Shimizu, Y., Ueda, H., Yoshitani, M., Toba, T., Fukuda, S. : Tracheal allotransplantation in beagle dogs without immunosuppressants. *Ann Thorac Surg* **72** : 1190-1194 (2001).
- Liu, Y., Nakamura, T., Sekine, T., Matsumoto, K., Ueda, H., Yoshitani, M., Toba, T., Shimizu, Y. : New Type of tracheal bioartificial organ treated with detergent : Maintaining cartilage viability is necessary for successful immunosuppressant-free allotransplantation. *ASAIO J* (in press).

2) 総 説

- 清水慶彦 : 再生医学 . *からだの科学* **217** : 2-8 (2001).
- 清水慶彦 : 神経再生の最先端 . *臨床外科* **56** : 45-52 (2001).
- 清水慶彦 : 再生医学の新しい展開 . *月刊新医療* **28** : 124-127 (2001).

- 清水慶彦：再生医学の展望．*最新医学* 56：92-97（2001）．
- 清水慶彦：再生組織工学の現状．*炎症・再生* 21：29-37（2001）．
- 清水慶彦：末梢神経の組織工学．*医学のあゆみ* 196：362-366（2001）．
- 清水慶彦：再生医療の現状と将来の展望．*実験医学* 19：204-208（2001）．
- 清水慶彦：神経再生を目指す再生医工学．*Biotherapy* 15：127-132（2001）．
- 清水慶彦：再生医学．*蛭雪時代・臨時増刊* 4：41-43（2001）．
- 清水慶彦：末梢神経の再生．*医学のあゆみ* 199：1101-1105（2001）．
- 中村達雄：軟組織の Tissue Engineering．*遺伝子医学* 18：123-130（2001）．
- 赤川安正，清水慶彦，茂野啓示：再生医療の最先端が補綴治療の未来を示す．*補綴臨床* 34：8-28（2001）．
- 鳥羽紀成，中村達雄，清水慶彦：．再生組織工学の現状と呼吸器疾患への展望．*Annual Review 呼吸器2002*（中外医学社）（in press）

◆ 学会等の発表 ◆

1）学会・研究会発表

- 清水慶彦：再生医療の現状と今後の展望．横浜泌尿器科フォーラム（2001.2.22 横浜）
- 清水慶彦：自己組織再生医療のための材料．第78回日本生理学会大会（2001.3.29-31 京都）
- 清水慶彦：神経の再生医療．第4回日本組織工学会（2001.7.6-7 川崎）
- 清水慶彦：再生医学の現況と将来．第23回精度管理に関する浜名湖カンファレンス（2001.8.18-19 浜松）
- 清水慶彦：繊維を用いた組織再生．第32回繊維学会夏期セミナー（2001.9.5-7 尾道）
- 清水慶彦：再生医学と外科．第76回中国四国外科学会総会（2001.9.27-28 高松）
- 清水慶彦：パネルディスカッション2・胸部外科領域の再生医療．第54回日本胸部外科学会総会（2001.10.3-5 大阪）
- 清水慶彦：再生医学の現状と将来．第20回視覚生理研究会（2001.10.13 神戸）
- 清水慶彦：人工臓器と再生医学の役割と将来展望．第39回日本人工臓器学会大会（2001.11.4-6 大阪）
- 清水慶彦：再生医療の現状と将来の展望．第6回 Nagasaki Modern Surgical Seminar（2001.11.10 長崎）
- Nakamura, T., Kawanami, E., Ueda, H., Fukuda, S., Itoi, S., Shigeno, K., Inoue, M., Yoshitani, M., Liu, Y., Toba, T., Hori, Y., Noguchi, T., Lynn, K.A., Kanemaru, S., Kojima, H., Shimizu, Y. : Novel tracheal prosthesis and *in situ* tissue engineering to enhance tissue regeneration on it. American Society for Artificial Internal Organs, 47th Annual Conference (2001.6.7-9. New York)
- 中村達雄：臓器再生医工学的手法を用いた気管の再生 第102回日本耳鼻咽喉科学会総会（2001.11.17-19 福岡）
- Inoue, M., Nakamura, T., Shigeno, K., Lynn, K.A., Toba, T., Fukuda, S., Hori, Y., Ueda, H., Noguchi, T., Nakahara, T., Kobayashi, E., Shimizu, Y. : A novel collagen-coated hydroxyapatite implants for regeneration of periodontal tissue. American Society for Artificial Internal Organs, 47th Annual Conference (2001.6.7-9. New York)
- Itoi, S., Nakamura, T., Shimizu, Y., Mizuno, H. : *In situ* tissue engineering for lung regeneration using a collagen sponge scaffold. American Society for Artificial Internal Organs, 47th Annual Conference (2001.6.7-9. New York)

岩倉 篤, 田畑泰彦, 洞井和彦, 小山忠明, 西村和修, 中村達雄, 清水慶彦, 米田正始: サージカルフォーラム: 開心術後・胸骨治癒改善への再生医学的アプローチ. 第101回日本外科学会総会 (2001.4.13 仙台)

岩倉 篤, 田畑泰彦, 洞井和彦, 榊原裕, 仁科健, 西村和修, 中村達雄, 清水慶彦, 米田正始: パネルディスカッション2・basic FGF と細胞移植を用いた胸部外科領域の再生医学. 第54回日本胸部外科学会総会 (2001.10.3-5 大阪)

Ueda, H., Hong, L., Nakamura, T., Tabata, Y., Shimizu, Y.: Bone Repair through Controlled-Release of Transforming Growth Factor β 1 (TGF- β 1) from Collagen Sponge. American Society for Artificial Internal Organs, 47th Annual Conference (2001.6.7-9. New York)

Ueda, H., Nakamura, T., Tabata, Y., Shimizu, Y.: Repairing of Rabbit Skull Defect by TGF- β 1-Incorporated Collagen Sponges of Different Thickness, 5th. Asian Symposium on Biomedical Materials (2001.12.9-12. Hong Kong)

Kanemaru, S., Nakamura, T., Kojima, H., Hiratsuka, Y., Hirano, S., Marufov, A. A., Shimizu, Y.: Regeneration of the recurrent laryngeal nerve using a woven polyglycolic acid (PGA) tube coated with collagen. American Society for Artificial Internal Organs, 47th Annual Conference (2001.6.7-9. New York)

河南里江子, 網谷良一, 中村達雄, 清水慶彦: Aspergillus fumigatus の alkaline protease 欠損株および restrictocin 欠損株のヒト気道線毛上皮に及ぼす影響. 第45回日本医真菌学会 (2001.10.26 東京)

Kobayashi, E., Nakahara, T., Inoue, M., Shigeno, K., Nakamura, T., Shimizu, Y.: Experimental study on regeneration of the temporomandibular joint (TMJ) disc using in situ Tissue Engineering. European Tissue Engineering Society (2001.11.7-10. Friburg, Germany)

Shigeno, K., Nakamura, T., Inoue, M., Ueda, H., Lynn, K.A., Toba, T., Fukuda, S., Hori, Y., Noguchi, T., Nakahara, T., Kobayashi, E., Shimizu, Y.: Reconstruction of mandibular bone defect using a collagen sponge with rh-TGF1. American Society for Artificial Internal Organs, 47th Annual Conference (2001.6.7-9. New York)

Toba, T., Nakamura, T., Shimizu, Y., Fukuda, S., Yoshitani, M., Ueda, H.: Influence of dehydrothermal crosslinking treatment on the growth of cultured PC-12 cells with laminin coated collagen. American Society for Artificial Internal Organs, 47th Annual Conference (2001.6.7-9. New York)

Toba, T., Nakamura, T., Fukuda, S., Yoshitani, M., Ueda, H., Shimizu, Y.: Regeneration of canine peroneal nerve across an 80mm gap using a polyglycolic acid-collagen tube filled with laminin soaked collagen sponge. 28th European Society for Artificial Organs (2001.9.23. Gent)

Noguchi, T., Nakamura, T., Shimizu, Y., Yamamoto, S., Kakehi, Y., Ogawa, O.: Regeneration of the bladder with collagen graft and silicon stent. American Society for Artificial Internal Organs, 47th Annual Conference (2001.6.7-9. New York)

Fukuda, S., Nakamura, T., Maruki, M., Hori, Y., Lynn, A., Toba, T., Ueda, H., Inoue, M., Yoshitani, M., Shigeno, K., Shimizu, Y.: Proliferation of mesenchymal stem cells from canine marrow to neural cells. American Society for Artificial Internal Organs, 47th Annual Conference (2001.6.7-9. New York)

Fujikawa, T., Nakamura, T., Shimizu, Y., Ohnishi, K., Matsumoto, K., Endo, K., Nomura, T., Sato, S.: Evaluation of peripheral nerve regeneration by a polyglycolic acid (PGA) - collagen tube - A walk function in particular - . The 40th conference The Japan Society of Medical Electronics & Biological Engineering (2001.5.9-11. Nagoya)

藤川孝満, 山崎敦, 木村智子, 田里博, 清水慶彦, 野村泰伸, 佐藤俊輔, 中田泰司, 遠藤克昭: 三次元位置解析システムによるイヌ末梢神経再生標本の機能評価. 第24回日本神経科学・第44回日本神経化学合同大会 (Neuro

2001)(2001 9 26-28 京都)

Hori, Y., Kimura, D., Nakamura, T., Shimizu, Y. : Regeneration of digestive tract. Symposium on Tissue Engineering (2001.1.19-20. kyoto)

堀 義生, 中村達雄, 黒川良望, 里見進, 清水慶彦: ティッシュエンジニアリングによる小腸の再生に関する実験的研究. 第101回日本外科学会 (2001 4 .12 仙台)

Hori, Y., Nakamura, T., Shimizu, Y. : In vivo remodeling of the collagen sponge scaffold in stomach tissue engineering. American Society for Artificial Internal Organs, 47th Annual Conference (2001.6.7-9. New York)

堀 義生, 中村達雄, 黒川良望, 里見進, 清水慶彦: 再生医学による胃の再建への試み. 第56回日本消化器外科学会 (2001 7 26 . 秋田)

Hori, Y., Nakamura, T., Shimizu, Y. : Functional analysis of the tissue engineered stomach. The13th World Congress of International Society for Artificial Organs (2001.11.5-8. Osaka)

Maruki, M., Nakamura, T., Fukuda, S., Hori, Y., Lynn, K.A., Toba, T., Ueda, H., Inoue, M., Yoshitani, M., Shigeno, K., Shimizu, Y. : Evaluation of the utility of woven PGA tubes for the regeneration of nerves. American Society for Artificial Internal Organs, 47th Annual Conference (2001.6.7-9. New York)

2) 講演会・シンポジウム等

清水 慶彦: 神経再生チューブ. 日本バイオマテリアル学会特別シンポジウム (2001 3 .13 東京)

清水 慶彦: 自己組織の再生誘導による再生医療. 口腔と全身の健康を創造する (2001 5 .12 東京)

清水慶彦: 再生医療の現状と将来の展望. 第12回京都泌尿器科医会並びに学術講演会 (2001 5 .19 京都)

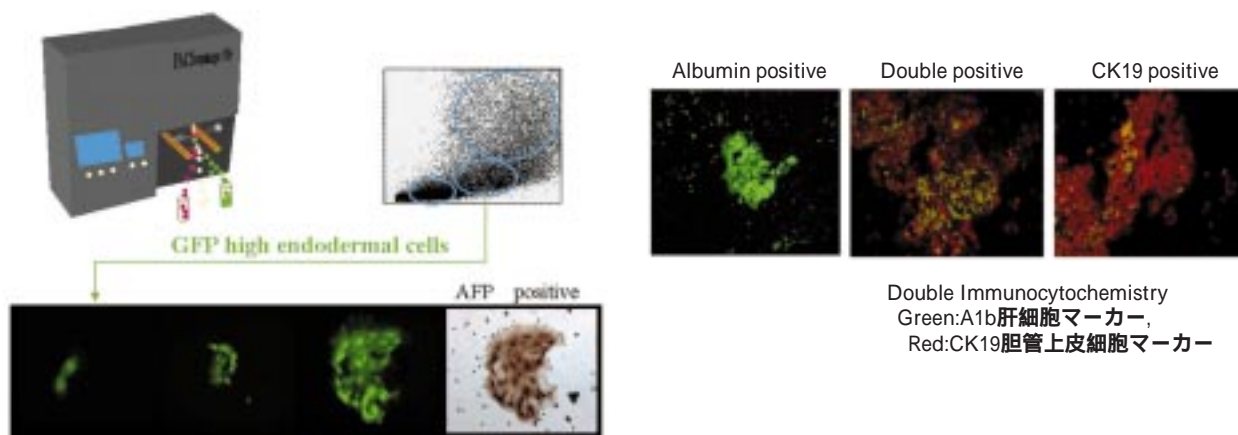
清水慶彦: 再生医療の現状と展望. 大阪歯科大学中央歯学研究所特別講演会 (2001 .11 29 大阪)

再生医学応用流動分野 Dept. of Regenerative Medicine

【研究概要】

多能性を有するES細胞や胎児, 成体肝幹細胞を利用したの内胚葉(肝臓)領域の再生医療にむけた基礎研究を行っている。これまでその存在が示唆されつつも分離されなかった成体正常肝組織中の肝幹細胞を分離するシステムを既にマウスで作成し、現在はそれをヒト肝臓組織に応用することでヒト成体肝幹細胞の分離を進めており、その臨床応用による自己再生治療をめざしている。また将来本邦でも樹立されるであろうヒトES細胞から分化誘導させつくられたヒト内胚葉系細胞を医療材料として提供することも我々の目標であり、将来的にはそれら細胞の利用による臓器形成の可能性を探りたい。

We are working on embryonic stem cells, fetal-, and adult-tissue specific stem cells, in order to establish regenerative medicine in endodermal (hepatic and pancreatic) region. We have already established the purification system of adult hepatic stem cells from normal mouse liver tissue. Applying this system to human liver tissues, we are



(図1) 精製分離した成体肝幹細胞の増殖を示す。それらは未分化肝細胞マーカー AFP 陽性である。
(Fig. 1) Serial observation of adult hepatic stem cell indicating its high growth potential. Adult hepatic stem cells are AFP positive.

(図2) 二分化能を有する成体肝幹細胞。
(Fig. 2) Adult hepatic stem cells possessing bipotentiality.

now purifying adult hepatic stem cells from human liver tissue, which would be applicable to clinical use as regeneration therapy depending on patient's own cells. Another purpose is to supply human ES derived endodermal cells for medical usage. Our final goal is to enable endodermal organogenesis from these immature stem cells.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

- Fujii H, Hirose T, Oe S, Yasuchika K, Azuma H, Fujikawa T, Nagao M, Yamaoka Y.: Contribution of bone marrow cells to liver regeneration after partial hepatectomy in mice. *J. Hepatology* (in press).
- Oe S, Hirose T, Fujii H, Yasuchika K, Nishio T, Iimuro Y, Morimoto T, Nagao M, Yamaoka Y.: Continuous intravenous infusion of deleted form of hepatocyte growth factor attenuates hepatic ischemia-reperfusion injury in rats. *J. Hepatology* 34: 832-9 (2001).

2) 著書

- 廣瀬哲朗, 山岡義生ら: 胎児肝細胞の分離と増殖「幹細胞・クローン研究プロトコール~再生医学にかかわる基礎技術~」羊土社 pp.179-184 (2001).
- 廣瀬哲朗, 山岡義生: 再生医学「社会医学用語辞典」朝倉書店 (印刷中)

3) 総説

- 廣瀬哲朗, 山岡義生ら: 再生医療はどこまで来たか, 外科治療: 特集「再生医療時代の幕開けを知る」(印刷中)
- 廣瀬哲朗ら: 肝幹細胞 肝胆膵 42: 179-187 (2001).
- 安近健太郎, 廣瀬哲朗, 山岡義生ら: 肝幹細胞の分化 最新医学 57: 94-101 (2001).
- 安近健太郎, 廣瀬哲朗, 中辻憲夫ら: ES 細胞と再生医療 今日の移植 14: 542-548 (2001).

◆ 学会等の講演 ◆

1) 学会・研究会発表

Hirose, T.: Blastosphere A new culture method for human fetal hepatic progenitor cells. 米国消化器病週間, 肝臓病学会, (2001 5 20-23 Atlanta, USA)

廣瀬哲朗: ヒト胎児肝前駆細胞の新規分離精製及び長期培養法の確立, 日本消化器外科学会, (2001 7 26-27 秋田)

廣瀬哲朗: 内胚葉レポーターマウス ES 細胞を用いた高効率内胚葉分化誘導法の検討 日本消化器外科学会, (2001 7 26-27 秋田)

廣瀬哲朗: ヒト胎児肝前駆細胞の新規分離精製及び長期培養法の確立, 第4回日本組織工学会, (2001 7 6-7 川崎市)

廣瀬哲朗: ヒト胎児肝前駆細胞への ex vivo 遺伝子導入の試み, 第37回日本移植学会 (2001 .12 .15-16 東京)

Oe, S.: Expansion of putative hepatic stem cells during dHGF treatment of thioacetamide-induced liver fibrosis in rats . 米国消化器病週間, 肝臓病学会, (2001 5 20-23 Atlanta, USA)

大江正士郎: dHGF による thioacetamide 肝硬変治療に伴う stem-like cell の進展, 日本消化器外科学会 (2001 .7 .26 -27 秋田)

大江正士郎: チオアセトアミド肝硬変への dHGF 治療における stem-like cell の増殖, 第4回日本組織工学会, (2001 7 6-7 川崎市)

藤井英明: マウス部分肝切除後再生肝への骨髄由来細胞 commitment の検討, 日本消化器外科学会, (2001 7 26-27 秋田)

藤井英明: マウス部分肝切除後再生肝への骨髄由来細胞生着の検討, 第4回日本組織工学会, (2001 7 6-7 川崎市)

藤井英明: マウス部分肝切除後再生肝への骨髄由来細胞 commitment の検討, 第37回日本移植学会 (2001 .12 .15-16 東京)

安近健太郎: マウス胎児肝前駆細胞の分離精製と細胞遺伝子治療への応用に関する基礎的検討, 日本消化器外科学会, (2001 7 26-27 秋田)

安近健太郎: マウス胎児肝前駆細胞の分離精製と応用に関する基礎的検討, 第4回日本組織工学会, (2001 7 6-7 川崎市)

安近健太郎: 胎児肝前駆細胞の分離精製と細胞遺伝子治療への応用に関する基礎的検討, 第37回日本移植学会 (2001 .12 .15-16 東京)

附属再生実験動物施設

Labortory of Animal Experiments for Regeneration

【研究概要】

再生実験動物施設は、再生医科学研究所で実施されている動物実験に関する管理業務（再生研の動物実験計画書の審査に係る業務、動物実験に関する講習会の開催、再生研西館における実験用マウスの維持、管理など）と共に、研究分野として独自の研究を行っている。

研究目的として以下の二つの異なる課題に沿った研究を実施している。その第一は、この十年来、本学産婦人科学教室の藤原浩講師の研究グループとウイルス研究所の上田正道先生との共同研究として実施しているものであり、生殖医学を基礎生物学的見地から研究している。具体的な研究課題は、卵巣顆粒膜細胞・黄体細胞の機能を明らかにすることである。このテーマでは、まず上記の女性の生殖系細胞（組織）に発現する分子を明らかにする目的で単クローン抗体を多数、作成しそれらの抗体が認識する抗原（分子）を同定した。この研究により、上記の細胞の増殖・分化の制御機構に今まで知られていなかった幾つかの新たな重要な所見を加えた。卵巣顆粒膜細胞は卵と接し、原始卵胞では、これを直接取り囲んでいる一層の扁平な上皮細胞として存在するが、性周期の進行により、幾つかの選ばれた卵胞ではエストロゲン刺激下に急速な増殖を遂げ、排卵と共に急速に黄体細胞に分化しプロゲステロンを産生し、妊娠が生じなかった時は細胞は死ぬが、妊娠が生じたときは妊娠黄体細胞として妊娠を維持する。このように顆粒膜細胞は増殖・分化、細胞死を一定の周期をもって繰り返しているユニークな細胞である。我々はこれまでに、これらの細胞に特異的に発現する抗原分子を見い出すため、上記の細胞で免疫、単クローン抗体を多数作成し、細胞膜結合型ペプチダーゼであるアミノペプチダーゼN、ジペプチジルペプチダーゼIV、カルボキシペプチダーゼM、エンドセリン変換酵素・1が卵巣細胞の分化抗原であることを報告してきた。そして細胞膜結合型ペプチダーゼが局所のタンパクやサイトカインなどの濃度を調節することによって卵巣機能に重要な役割を果たしている可能性を指摘してきた。また、これらの他に得られた単クローン抗体が認識する抗原が細胞接着やシグナル伝達に重要な役割を果たしている分子であることが明らかになってきた。これらの研究により integrin $\alpha 2 \beta 5$ および integrin の機能を調節するといわれている CD9 や integrin associated protein もまた卵巣細胞の分化抗原であり卵巣機能に関与していることも明らかにし報告してきた。これらの分子に加えて、肝臓において解毒物質として作用している epoxide hydrolase がヒト卵巣に発現しており、ステロイド産生に関与していることを上記の研究課程で得られた単クローン抗体の解析から報告した。これらの研究成果は1991年以来、既に40報を超える論文として主要な英文専門誌に発表してきた。

これらの研究と並行して、近年、我々は絨毛外絨毛細胞（extravillous trophoblast: EVT）に特異的に発現する抗原分子の解析を行っている。着床後、胚由来の絨毛細胞は絨毛上皮を構成する villous trophoblast と絨毛の先端から母体脱落膜へ向かい子宮筋層にまで達する EVT とに分かれる。EVT の機能としては、母体血管を浸食することにより母胎間のガス・物質交換の場である絨毛間腔への母胎血の流入を制御していることが推察されているが、その詳細な機能は未だ不明な点が多い。EVT は母体側への浸潤する過程で様々な形態をとり、その浸潤様式は癌細胞の浸潤様式と類似していることが近年指摘されつつあるが、EVT の母体側への浸潤は子宮筋層の1/3までで停止しておりその浸潤停止機構は不明である。よって、この EVT の浸潤および浸潤停止機構の解明により、妊娠成立・維持の機構が明らかにされるだけでなく、癌浸潤・転移阻止機構の新たな知見を得ることができるモデル系

を提供すると考えられる．そのため我々は，EVT に特異的に発現する分子を同定する目的で，EVT を含む組織をマウスに免疫し単クローン抗体を作成した．その結果，未知の分子を含めていくつかの EVT に特異的に発現する分子を同定することに成功し，現在その機能を含めて詳細を検討中であり，興味ある結果が得られつつある．

第二の研究課題では，ヒト T 細胞がヒト・レトロウイルス（HTLV-1）感染により悪性化増殖能を獲得する機構の研究を行っている．T 細胞は免疫応答を制御する中枢機能を持つ重要な細胞である．エイズ（AIDS）ウイルスは CD4 陽性の T 細胞を標的として，これに感染し T 細胞を破壊し免疫機能を破綻させヒトを死に追いやる．また，T 細胞の増殖因子である interleukin-2，-4，-7，-9，-15 による増殖シグナル伝達に共通して必須である受容体構成分子である X 染色体上にある common γ chain 遺伝子に変異が生じ機能しなくなることにより T 細胞が増殖せず X 染色体連鎖免疫不全症候群が生じることも明らかになってきた．これらの研究は，HTLV-1 感染により発症することが強く示唆されている成人 T 細胞白血病（ATL）細胞に異常発現している interleukin-2 受容体 α 鎖の研究にその発端を求めることができる．本課題では，生後直ちにヒト・レトロウイルス（HTLV-1）に感染した T 細胞が 40 - 50 年の経過を経て悪性化増殖能を獲得し白血病細胞となり，成人 T 細胞白血病（ATL）を発症する機構を細胞培養を基盤に置き，分子生物学的な方法を用いて解析している．HTLV-1 に感染しているヒト T 細胞は IL-2 受容体を常時発現しており，IL-2 が存在すれば感染細胞の多くは持続的に増殖し IL-2 依存性 T 細胞株となる．我々は既に 5 株の白血病細胞株を含め 50 株以上の IL-2 依存性 T 細胞株を樹立し，IL-2 が ATL の白血病細胞の増殖因子として作用することを明らかにした．それらの細胞株の幾つかは長期間培養中に IL-2 依存性を離脱し IL-2 非依存性 T 細胞株となり，さらにその一部ではヌードマウスや SCID マウスで腫瘍を形成するようになった．このような観察結果から，HTLV-1 感染 T 細胞は，IL-2 依存性増殖相 IL-2 非依存性増殖相（不死化） 造腫瘍能の獲得という段階的な増殖性の進展が生じて悪性化細胞となると考え，上記の段階的な T 細胞の増殖性の変化が如何なる遺伝子の変化に基づいているかを調べている．現在，我々が樹立した多数の HTLV-1 感染 T 細胞株についてヌードマウス，SCID マウスを用いて詳細な造腫瘍性の検討を行った結果，ED-40515，ATL-43T，ATL-21C，ATL-16T 細胞株では上記の増殖性進展過程が再現性よく立証された．この結果から，造腫瘍性（悪性）変化と挙動を共にする遺伝子，分子の同定，機能解析を行うため，造腫瘍能獲得の前後で大きく変化する遺伝子の発現検索を先ず cDNA microarray 法を用いて開始した．現在までに二種類の細胞系での 9000 余りの遺伝子の解析が進行しており，幾つかの興味ある遺伝子候補が同定されてきており，これからの解析が期待される．この課題は遺伝子実験施設の清水章教授との共同研究として行っている．また，ウイルス研究所の淀井淳司教授との共同研究により HTLV-1 感染 T 細胞株の IL-2 依存性から IL-2 非依存性への増殖性の進行過程でチオレドキシン結合タンパク 2（TBP-2）の発現が大半の HTLV-1 感染 T 細胞株で消失するという大変に興味ある結果を得た．現在その詳細については検討中であるが，この発見は今後の研究について大きな手がかりの一つとしてその発展が期待される．また，ウイルス研究所の松岡雅雄教授との共同研究により HTLV-1 の Tax 遺伝子の白血病発症における役割の研究も進展している．

我々の樹立した T 細胞株は非常に有用であり，これらの細胞を用いて，チオレドキシン遺伝子，ヒト IL-4 等の遺伝子が単離されており，T 細胞の増殖シグナル伝達の研究にも活用されている．さらに，これらの T 細胞株から，新しい生理活性物質の同定が期待されるばかりでなく，悪性化転換した T 細胞の解析から，正常 T 細胞の重要な生理機能の解析も期待される．

In our laboratory, we have been involved in two independent research projects. One of our research objectives is to find out molecule(s) physiologically involved in the growth and differentiation of female reproductive organs and tissues, namely human ovarium and endometrium, which are characterized by their periodic repetitions of growth,

differentiation and cell death. This research project has been started in 1991 and has been studied in collaboration with Dr. Hiroshi Fujiwara of Department of Gynecology and Obstetrics of Kyoto university Medical School and Dr. Masamichi Ueda of Institute for Virus Research, Kyoto University. To find out unknown molecules that are expressed in these tissues, we produced several monoclonal antibodies against different kinds of cells constituting these tissues and have identified several important molecules, such as metallo-peptidases, integrins, MHC class II molecules and some non-characterized molecules, which play possibly important physiological roles. Now we have been trying to produce monoclonal antibodies against trophoblasts, which play important role(s) during fetal development, to investigate the molecular events in materno-fetal interface. Results of these projects have been published in more than 40 research papers in major medical journals.

Another project is to elucidate the mechanism of malignant transformation of the human retrovirus HTLV-1-infected normal T cells (Adult T cell leukemia: ATL) and we have been engaged in the study these twenty years. HTLV-1-infected normal T cells appeared to express the interleukin 2 (IL-2) receptor constitutively, and they often became to proliferate indefinitely in vitro in the presence of IL-2. Based on these initial findings we have established more than fifty HTLV-1-infected T cell lines, including 5 leukemic T cell lines, from ATL patients by using IL-2 as a growth factor. These results gave an evidence that IL-2 expanded and maintained the growth of leukemic cell clone cells probably in the initial phase of ATL development. Some of IL-2 dependent T cell lines began growing without exogenous IL-2 (immortalization), and further acquired tumorigenicity in immune deficient nude mice and/or SCID mice (five HTLV-1-infected T cell lines established in our laboratory showed tumorigenicity in nude mice and/or SCID mice). From these observations we proposed a stepwise growth progression hypothesis for ATL pathogenesis. Now we have been working to elucidate the molecular events underlining malignant transformation of HTLV-1-infected T cells by cDNA microarray analysis using many T cell lines established in our laboratory.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

Nakayama, T., Fujiwara, H., Maeda, M., Inoue, T., Yoshioka, S., Mori, T. and Fujii, S.: Human peripheral blood mononuclear cells (PBMC) in early pregnancy promote embryo invasion in vitro: hCG enhances the effects of PBMC. *Human Reprod.*, (in press).

2) 総説

Fujiwara, H., Nakamura, K., Yoshioka, S., Yamada, S., Maeda, M. & Fujii, S.: Bestatin, an inhibitor of aminopeptidase N, enhanced follicular growth in mice. In "Cell Surface Aminopeptidases: Basic and Clinical Aspects", pp211-215. eds. Mizutani S. et al. (eds). Elsevier Science B.V. 2001.

Yoshioka, S., Fujiwara, H., Tatsumi, K., Nakayama, T., Higuchi, T., Inoue, T., Yamada, S., Maeda, M., & Fujii, S.: Is Endothelin Converting Enzyme-1 the New Regulator of Corpora Lutea ? In "Cell Surface Aminopeptidases: Basic and Clinical Aspects", pp223-227. Mizutani S. et al. (eds). Elsevier Science B.V. 2001

◆ 学会等の講演 ◆

1) 学会・研究会発表

武田 哲, 前田道之, 森川 茂, 安永純一朗, 野坂生郷, 松岡雅雄: ATL 細胞株における Tax 不活性化機構. 第60回日本癌学会総会.(2001 9 28 横浜)

Ahsan Kaimul, 増谷弘, 西中由美子, 山口佳美, 前田道之, 淀井淳司: HTLV-1 感染細胞におけるチオレドキシン結合タンパク質(TPB-2)の発現消失機構の解析. 第60回日本癌学会総会.(2001 9 28 横浜)

今田和典, 前田道之, 古賀光, 上田真紀, 菱沢方勝, 内山卓: ATL の発症に關与する遺伝子の探索. 第60回日本癌学会総会.(2001 9 27 横浜)

増谷 弘, Ahsan Kaimul, 西中由美子, 山口佳美, 前田道之, 淀井淳司: IL-2 非依存性 HTLV-1 感染細胞におけるチオレドキシン結合蛋白(TPB-2)の発現消失機構の解析. 第31回日本免疫学会総会学術集会(2001 .12 .11 大阪)

吉岡信也, 藤原浩, 山田成利, 佐藤幸保, 樋口壽宏, 上田正道, 前田道之, 藤井信吾: ヒト黄体におけるインテグリン $\alpha 5$ の生理学的意義の検討. 第53回日本産科婦人科学会学術講演会.(2001 5 .12 札幌)

樋口壽宏, 藤原浩, 江川晴人, 佐藤幸保, 西岡良泰, 藤田潤, 前田道之, 藤井信吾: ヒト絨毛 cytotrophoblast に強発現する未知の分子 EST9 の解析. 第9回日胎盤学会.(2001 .10 26 大阪)

4 . 学術集会

4 - 1 再生医科学研究所学術講演会 「21世紀における再生医学への展望」

(2001 3 21 キャンパスプラザ京都)

開会挨拶	再生医科学研究所長	山 岡 義 生
トピックス1：再生医学のための幹細胞研究 豊長類 ES 細胞株の樹立と再生医学 ES 細胞からの神経細胞への分化と再生医学への応用 造血幹細胞からリンパ球系列への分化のプロセス 脾β細胞の新生と再生医学への応用	再生医科学研究所教授 再生医科学研究所助手 再生医科学研究所教授 群馬大学生体調節研究所教授	中 辻 憲 夫 河 崎 洋 志 桂 義 元 小 島 至
トピックス2：再生医学のための細胞増殖因子と細胞外マトリックス研究 組織再生と HGF シグナリング	東京工業大学大学院生命理工学研究科教授	喜多村 直 実 宿 南 知 佐 開 祐 司 伊 藤 義 文 細 川 暢 子 永 田 和 宏
間葉系組織における血管侵入障壁の分子基盤	再生医科学研究所助教授 再生医科学研究所教授 東京大学医科学研究所助手 再生医科学研究所助手 再生医科学研究所教授	
組織構築における ECM リモデリング 分子シャペロンによるコラーゲンの分子構築制御		
トピックス3：組織臓器構築のための再生医学のフロンティア カプセル化細胞脳内移植による神経疾患の治療 糖尿病に対する膵島再生医療 小型肝細胞を用いた肝組織形成 生体材料と DDS 技術とを用いた生体内での組織臓器の構築	岡山大学医学部附属病院講師 再生医科学研究所教授 札幌医科大学医学部助教授 再生医科学研究所教授	伊 達 勲 井 上 一 知 三 高 俊 広 田 畑 泰 彦

4 - 2 セミナー

日時	演者 所属	演題	セミナー名	主催分野
2001 . 1 23	関 修司 防衛医科大学校	免疫生体防御の主要臓器としての肝臓	免疫学セミナー	再生免疫学
2001 . 1 26	澤 齊 さきがけ研究21研究員, JST	線虫における非対称分裂の制御	分子発生・分子遺伝 セミナー	再生誘導研究
2001 . 1 26	伊藤豊志雄 実験動物中央研究所	実験動物(マウス)の微生物汚染管理 について	再生医科学研究所セ ミナー	実験動物施設
2001 . 1 29	佐渡 敏彦 大分県立看護科学大学	骨髄キメラにおける免疫系の再構成	免疫学セミナー	再生免疫学
2001 . 1 30	村田 昌之 岡崎国立共同研究機構生理学 研究所	セミンタクト細胞系を用いたゴルジ 体・小胞体ダイナミクス	第93回細胞生物学セ ミナー	細胞機能調節学
2001 . 2 .16	賀屋 秀隆 京都大学理学研究科	高等植物における CAF・1の機能	分子発生・分子遺伝 セミナー	再生誘導研究
2001 . 2 20	kathryn Wood Univ.of Oxford, John Radcliffe Hospital	Specific unresponsiveness to alloantigens in vivo	生体機能調節学セミ ナー	生体機能調節学
2001 . 2 21	Alain Krol CNRS, France	Surprises in the decoding of selenocysteine : Another reading of the genetic code	第94回細胞生物学セ ミナー	細胞機能調節学

日時	演者 所属	演題	セミナー名	主催分野
2001 . 2 . 23	Stephan L. Johnson ワシントン大学医学部	cKit-dependent and independent pathways of zebrafish melanocyte stripe developemnt and regeneration	分子発生・分子遺伝 セミナー	再生誘導研究
2001 . 2 . 23	三宅 健介 佐賀医科大学	LPS 認識における Toll-like receptor (TLR) , および会合する MD タンパクの役割	特別セミナー	再生免疫学
2001 . 2 . 24	藤田 禎三 福島県立医科大学	補体レクチン経路の自然免疫における役割	特別セミナー	再生免疫学
2001 . 3 . 9	及川 恒之 (財)佐々木研究所	血液細胞の発生分化と Ets ファミリー転写因子	再生医科学研究所セ ミナー	実験動物施設
2001 . 3 . 12	Dave T. Shima Imperial Cancer Research Fund, UK	Vascular Morphogenesis	分子発生・分子遺伝 セミナー	再生誘導研究
2001 . 3 . 13	Irun R. Cohen Weizmann Institute of Science, Israel	Peptide immuno-therapy of Type 1 Diabetes in NOD Mice and in Human	生体機能調節学セミ ナー	生体機能調節学
2001 . 3 . 15	G. S. Barsh Stanford Univ.	Genetic and molecular basis of mammalian pigmentation patterns	分子発生・分子遺伝 セミナー	再生誘導研究
2001 . 3 . 16	森脇 豊 朝日大学歯学部	エナメル質石灰化機構の実験的アプローチ	シミュレーション医 工学セミナー	シミュレーション 医工学
2001 . 3 . 16	中別府雄作 九州大学生体防御医学研究所	活性酸素による核酸の酸化障害とその防御機構 - 発癌から神経変性まで -	老化生物学・生体微 細構造セミナー	再生誘導研究・生 体微細構造学
2001 . 3 . 19	石上 恵一 東京歯科大学	咬合と平衡感覚, 聴性脳幹 反応および身体運動機能との関係	シミュレーション医 工学セミナー	シミュレーション 医工学
2001 . 3 . 23	三原 勝芳 九州大学大学院医学研究科	動物細胞における膜蛋白質の仕分けと膜への組み込み機構	第95回細胞生物学セ ミナー	細胞機能調節学
2001 . 3 . 23	Michael Rudnicki オタワ大学	Specification and potential of myogenic stem cells	分子発生・分子遺伝 セミナー	再生誘導研究
2001 . 3 . 23	池原 進 関西医科大学	骨髄移植と臓器移植の展望	再生医科学研究所セ ミナー	実験動物施設
2001 . 3 . 27	Christof Niehrs 独ガン研究所	Wnt signaling and embryonic head induction	分子発生・分子遺伝 セミナー	再生誘導研究
2001 . 5 . 14	河崎 洋志 再生医科学研究所	胚性幹細胞の試験管内分化	細胞工学・再生生物 学セミナー	再生誘導研究
2001 . 5 . 21	笹井 芳樹 再生医科学研究所	初期神経系分化の分子制御機構	細胞工学・再生生物 学セミナー	再生誘導研究
2001 . 5 . 21	近藤 亨 熊本大学医学部	オリゴデンドロサイト前駆細胞の可塑性	分子発生・分子遺伝 セミナー	再生誘導研究
2001 . 6 . 4	笹井 芳樹 再生医科学研究所	再生医学をめぐる諸問題: ヒト ES 細胞ガイドラインを中心に	細胞工学・再生生物 学セミナー	再生誘導研究
2001 . 6 . 8	菊池 裕 カリフォルニア大サンフラン シスコ校医学部	脊椎動物における内胚葉形成機構	分子発生・分子遺伝 セミナー	再生誘導研究
2001 . 6 . 11	斉藤哲一郎 再生医科学研究所	neural identity 決定の分子機構	細胞工学・再生生物 学セミナー	再生誘導研究
2001 . 6 . 12	Yuriy Nyashin Perm State Technical Univ. Russia	Two-Phasic Solid-Liquid Structure in Biomechanics	シミュレーション医 工学セミナー	シミュレーション 医工学
2001 . 6 . 18	中辻 憲夫 再生医科学研究所	ES 細胞と生殖細胞系列の発生研究と再生医学	細胞工学・再生生物 学セミナー	再生誘導研究
2001 . 6 . 25	和田 圭司 再生医科学研究所非常勤講師	神経変性と再生の分子機構	細胞工学・再生生物 学セミナー	再生誘導研究

日時	演者 所属	演題	セミナー名	主催分野
2001.7.2	古谷(清木) 誠 再生医科学研究所非常勤講師	小型魚類を用いた中枢神経系の前後軸形成機構の解析	細胞工学・再生生物学セミナー	再生誘導研究
2001.7.10	Akiyoshi Sugawara 日本大学歯学部総合歯学研究所	In vitro and in vivo evaluation of a calcium phosphate cement	シミュレーション医学セミナー	シミュレーション医工学
2001.7.10	Shozo Takagi National Inst. of Standards and Technology, USA	Development of Self-setting Calcium phosphate cements: Chemistry, Properties and Applications	シミュレーション医学セミナー	シミュレーション医工学
2001.7.16	関 祐司 再生医科学研究所	骨軟骨の形成と再生	細胞工学・再生生物学セミナー	再生誘導研究
2001.8.10	David Ron New York Univ. USA	Cellular adaptations to ER load	第96回細胞生物学ジョイントセミナー	細胞機能調節学
2001.8.10	Roberto Sitia Univ. Vita e Salute San Raffaele, Italy	Oxidative protein folding in the ER	第96回細胞生物学ジョイントセミナー	細胞機能調節学
2001.8.27	Frances Jones Eastman Dental Institute Univ. College London	Titanium as a Biomaterial: Can Fundamental Surface Studies Aid Applied Research?	シミュレーション医学セミナー	シミュレーション医工学
2001.8.28	吉田 尊雄 海洋バイオテクノロジー研究所	古細菌由来のグループ2型シャペロニンの構造と折り畳み機構	第97回細胞生物学セミナー	細胞機能調節学
2001.9.3	田辺 康人 さきがけ研究21研究員	神経系の多様性獲得機構	細胞工学・再生生物学セミナー	再生誘導研究
2001.9.4	岩下 靖史 再生医科学研究所非常勤講師	シュワン細胞移植による脱髄病変の再髄鞘化	細胞工学・再生生物学セミナー	再生誘導研究
2001.9.10	桂 義元 再生医科学研究所	造血とT細胞分化のプロセス	細胞工学・再生生物学セミナー	再生誘導研究
2001.9.17	児玉 亮 再生医科学研究所客員教授	人工血管の研究開発	細胞工学・再生生物学セミナー	再生誘導研究
2001.10.12	津田 浩史 再生医科学研究所研究員	頭部中枢神経系の背腹軸の形成	分子発生・分子遺伝セミナー	再生誘導研究
2001.10.26	横田 真一 札幌医科大学医学部	HSO27の発現変化と細胞死に及ぼす影響 - インターフェロン・ γ 感受性癌さいばうとウイルス感染細胞を用いた解析 -	第98回細胞生物学セミナー	細胞機能調節学
2001.10.29	Daniel A Ruefenacht Univ. of Geneva, HUG and Medical School	Minimally invasive cementoplasty by direct puncture and PMMA injection	組織修復セミナー	組織修復材料学
2001.10.30	浅原 孝之 Tufts University School of Medicine	Stem cell translational research for vascular medicine	組織修復セミナー	組織修復材料学
2001.11.12	井上 望 Johns Hopkins Medicine	骨格筋系の再生医療における臨床前試験 - 生物物理学的刺激, 骨形成蛋白, 間葉系幹細胞の臨床応用をめざして -	組織修復セミナー	組織修復材料学
2001.11.16	大沢 匡毅 理化学研究所 発生再生科学総合研究センター	色素細胞をモデルとした幹細胞維持機構の解明	分子発生・分子遺伝セミナー	再生誘導研究
2001.11.27	菅野 雅元 広島大学医学部	造血細胞分化におけるポリコム遺伝子の役割	免疫学セミナー	再生免疫学
2001.12.22	森 浩二・服部 耕治 再生医科学研究所	ウェーブレット変化を利用した関節軟骨の定量的評価に関する研究	横浜・京都・奈良バイオメカニクスカンファレンス	生体機械工学
2001.12.22	青木 秀之 再生医科学研究所	フィブロインゲルを用いた軟骨再生の試み	横浜・京都・奈良バイオメカニクスカンファレンス	医用システム工学

4 - 3 研究発表会

第15回医工若手研究発表会 (2001 3.14)

発表者	所属	演 題
1. 高 寅 甲	組 織 修 復	カルボキシル・メチル・セルロース (CMC) 上に培養した細胞のセルラーゼによる回収
2. 上 田 勇一郎	組 織 修 復	全血灌流型バイオ人工肝臓の安全性評価
3. 保 坂 泰 介	組 織 再 生	脂肪肉腫特異的 TLS-CHOP, EWS-CHOP 融合遺伝子の脂肪分化抑制作用
4. 大 山 隆 城	組 織 修 復	頸椎固定用ケージ内に充填する材料について
5. 福 中 泰 紀	生 体 材 料	生体吸収性ハイドロゲルを用いた DNA のコントロールドリリース
6. 鳥 羽 紀 成	臓 器 再 建	ラミニンコーティングしたコラーゲンスポンジ充填 PGA コラーゲンチューブを用いた犬脾骨神経の再生
7. 慕 鷹	医 用 シ ス	ラット皮下への金属粉埋入による各臓器の金属元素の分布
8. 仲 俣 岳 晴	組 織 再 生	p53欠損マウス由来成長軟骨細胞株の樹立
9. 山 城 大 泰	生 体 材 料	ヒト脂肪前駆細胞に対する遺伝子導入の検討
10. 尾 関 真	生 体 材 料	徐放化塩基性線維芽細胞増殖因子の毛包組織に対する効果
11. 王 文 敬	器 官 形 成	人工脾皮下移植
12. 谷 山 和 宏	組 織 再 生	PVA-H を用いたイヌ用人工椎間板の力学特性
13. 木 村 祐	生 体 材 料	徐放化細胞増殖因子と前駆細胞との組み合わせによる脂肪組織の再生
14. 上 田 寛 樹	臓 器 再 建	熱架橋コラーゲンスポンジを用いた TGF- β 1 のコントロールリリース
15. 太 田 信	シミュレ	三次元デジタイザから三次元プリンタへの積層造形システム
16. 徐 慎 之	医 用 シ ス	骨粗鬆症ラット大腿骨への静磁場の影響
17. Ulla Koenig	組 織 修 復	Study of the properties of PEO-block-copolymer to develop membranes for improved bioartificial devices
18. 松 村 和 明	シミュレ	歯根膜を有する人工歯根の開発 - チタンと EVA の接着
19. 坂 本 亮	生 体 機 械	低侵襲医療機器のための振動による摩擦制御について
20. 岩 倉 篤	生 体 材 料	モノクロタリン誘導肺高血圧ラットに対する bFGF の血管新生療法
21. 洞 井 和 彦	生 体 材 料	術後感染症に対するバンコマイシンの徐放の研究
22. 福 田 正 順	臓 器 再 建	骨髄細胞の分化誘導
23. 大 幡 里 絵	医 用 シ ス	多孔質膜中イオン透過に対する静磁場の影響
24. 村 上 能 庸	組 織 修 復	ES 細胞のカプセル化と培養
25. 藤 間 真 紀	器 官 形 成	脾臓移植に伴う免疫応答の基礎的研究
26. 中 井 隆 介	シミュレ	骨の力学的適応変形に関するコンピュータシミュレーション - 人工肘関節設計への適用 -
27. 西 浦 淳	組 織 再 生	射出成形機を用いて作成した PVA-H の生体内劣化
28. 戸 田 満 秋	組 織 修 復	表面プラズモン共鳴法を用いたセルロース系材料と補体との相互作用の解析
29. Andrew K. Lynn	臓 器 再 建	関節再生: 機械的な歪に基づく材料設計
30. 吉 田 宏 昭	シミュレ	長時間運動走行時における腰痛発生メカニズムの解明
31. 原 田 恭 治	医 用 シ ス	関節軟骨の再生と力学刺激に関する研究 (in vivo examination)
32. 山 口 百合香	生 体 材 料	異なる基材上でのメサングウム細胞の培養
33. 許 宝 友	器 官 形 成	Feasibility of developing three layer agarose microbeads with xenogeneic islets as a bioartificial pancreas in dog
34. 劉 愉	臓 器 再 建	気管免疫原性について
35. 小屋松 祐 一	組 織 修 復	交互浸漬法による金属表面への遺伝子の担持とその血管内治療への応用
36. 高 木 順 平	組 織 再 生	Bioactive 骨セメント使用 THA における Stress shielding
37. 東 高 志	シミュレ	MRI を用いた嘔みしめ時の頸部血流速計測
38. 中 田 健 一	生 体 機 械	人工関節用ジルコニア / アルミナの磨耗特性
39. 高 橋 佳 文	生 体 材 料	徐放化骨形成因子による異所性骨形成の促進
40. 堀 義 生	臓 器 再 建	消化管の再生に関する実験的研究
41. 青 山 輝 義	生 体 材 料	超音波による遺伝子導入効率の in vivo における改善
42. 佐 藤 秀 樹	組 織 修 復	VEGF の発現と精製
43. 上水流 広 史	生 体 材 料	モノクローナル抗体を用いたラット脈絡膜新生血管モデルに対する薬剤ターゲティング

発表者	所属	演題
44. 河南 里江子	臓器再建	ヒト気管支 organ culture model を用いた肺アスペルギルス症の感染経路の検討
45. 森田 有 亮	生体機械	軟骨再生過程の粘弾性評価
46. 青山 朋 樹	組織再生	p53ノックアウトマウスからの関節軟骨株樹立
47. 糸井 真 一	臓器再建	in situ tissue engineering による肺再生
48. 伊藤 栄 二	組織修復	無細胞系における高効率蛋白合成
49. 世本 敏 高	生体機械	in vivo 状態での低侵襲医療用小型機器の推進特性
50. 長田 奈津紀	器官形成	単離脾臓における内分泌機能等の評価
51. 御守 直 樹	医用シス	人工膝関節用超高分子量ポリエチレンのデラミネーション破壊に関する研究
52. 井上 祐 利	臓器再建	新しい人工歯根の開発
53. 平田 伊佐雄	組織修復	表面プラズモン解析装置を用いた poly(N-isopropylacrylamide) 薄膜層の温度転位の観察
54. Yousef AL-Abdullat	シミュレ	Surface modification of pure Mg as new biomaterial by alkaline solution for improvement of corrosion resistance in vitro
55. 中原 貴	臓器再建	成長因子徐放システムによる歯周組織再生の試み
56. 村上 弘	組織再生	3種のマウス骨肉種株の樹立及びその血管新生能について
57. 兼松 明 弘	生体材料	増殖因子徐放担体としての Bladder acellular matrix
58. 金 度 勳	器官形成	A novel isolation method for rat pancreatic islets
59. 小林 英三郎	臓器再建	歯髄の再生に関する研究
60. Ahmed EL-Salmawy	組織修復	Preparation of poly(L-lactic acid) PLLA hollow fibers for tissue engineering
61. 姜 有 峯	シミュレ	スポーツによる頭部損傷の低減に関する研究
62. 葭 仲 潔	生体機械	内視鏡挿入補助システムに関する研究
63. 茂野 啓 示	臓器再建	イヌ前頭洞内の骨再生について
64. 吉田 浩 士	生体材料	ラット腎虚血再灌流障害に対する HGF 局所徐放の有用性の検討
65. 木村 大	臓器再建	胆管の再生
66. 金 奉 哲	シミュレ	Fabrication of ultra-high-strength bone fracture fixture by using poly(L-lactide)
67. 佐竹 晃	器官形成	イヌの糖尿病モデル作成
68. 高須 康 弘	組織修復	bFGF 固定化コイルの開発
69. 堀 洋	器官形成	単離ブタ膵内分泌細胞の機能と移植材料としての再構築
70. 榊原 裕	生体材料	心不全モデルラットに対する左室形成術と細胞移植
71. 岡本 健	組織再生	catechin による移植末梢神経保存の試み
72. 森 浩 二	生体機械	ステントの曲げ剛性の測定
73. 櫻井 智 徳	器官形成	バイオ人工膵皮下移植
74. 野口 哲 哉	臓器再建	人工医療材料を用いた膀胱再生の試み
75. 青木 秀 之	医用シス	フィブリンゲルを用いた軟骨再生の試み
76. 植山 浩 二	生体材料	虚血性心疾患に対する新しい治療戦略 - bFGF を用いた biobypass への挑戦 -
77. 吉谷 信	臓器再建	ラットの脊髄再生 - 間葉系細胞を使って

4 - 4 学術講演会・シンポジウム・研究会

Symposium on Tissue Engineering National Taiwan University & Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University

(2001.1.19-20. Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto-Univ. Organizer : Dept of Reporative Materials)

Session1 (Chairwoman : Chisa Shukunami)

Masaya Yamamoto, Yutaka Sakakibara, Masashi Komeda and Yasuhiko Tabata (Department of Biomaterials) :
Cardiomyocyte transplantation for myocardial infarction therapy.

Yasuji Harada, Naohide Tomita (Department of Medical Systems Engineering) :
Designing devices for setting mechanical condition on regenerating cartilage tissue.

Fong-Jou Hsleh (National Taiwan University Hospital) :
An "in vivo" novel method for assessment on tissue vascularity.

Session2 (Chairman : Norio Nakatsuji)

Naoki Onmori, Naohide Tomita (Department of Medical Systems Engineering) :

Mechanism for delamination destruction of ultra high molecular weight polyethylene joint Component.
 Hiroyuki Shibata, Yusuke Oshima, Chisa Shukunami, and Yuji Hiraki (Department of Molecular Interaction and Tissue Engineering) :
 Purification and functional analysis of recombinant chondromodulin-I expressed in E. coli.
 Yusuke Oshima, Yuji Hiraki and Chisa Shukunami (Department of Molecular Interaction and Tissue Engineering)
 Cloning and a expression pattern of tenomodulin, a novel angiogenesis inhibitor.
 Wen-Fu Lai (Taipei Medical University)
 Cartilage repair and regeneration : ECM-guided tissue engineering.

Session3 (Chairman : Fong-Jou Hsleh)

Norio Nakatsuji (Department of Development and Differentiation)
 Our research on mammalian germ cells and ES cells.
 Hossein Hosseinkhani, Teruyoshi Aoyama and Yasuhiko Tabata (Department of Biomaterials) :
 Enhanced transfection efficiency of plasmid-DNA by ultrasound.
 Shinji Fujimoto, Yoshimoto Katsura, Yoshimoto Katsura (Department of Immunology) :
 Overexpression of Id2 in murine hematopoietic progenitors inhibit B and T cell development.
 Yuan-Haun Lee (College of Engineering, National Taiwan University) :
 Montmorillonite and its application as biomaterial.

Session4 (Chairman : Yasuhiko Tabata)

Ta-Ming Wang (College of Engineering, National Taiwan University)
 Membranes for guided tissue regeneration.
 Isao Hirata, Hiroo Iwata (Department of Reporative Materials)
 Complement Activation on Mixed Self-Assembled Monolayers with Surface Hydroxyl and Methyl Surface Groups by Surface Plasmon Resonance.
 Tomokatsu Ikawa, Yoshimoto Katsura (Department of Immunology)
 Commitment of hematopoietic progenitor cells toward T cell lineage.
 Makoto Ozeki, Toshihiko Ishii, Yu Kimura, Takashi Inamoto, and Yasuhiko Tabata
 (Department of Biomaterials) :
 Adipose tissue engineering based on preadipocytes.

Session5 (Chairman : Akio Kishida)

Kazuyasu Ushio, Masanori Oka (Department of Tissue Regeneration) :
 Synthetic osteo-chondrel composite material
 Yu-Bong Kang, Tsutao Katayama, Sadami Tsutsumi, Yukimasa Toyama (Department of Medical Simulation Engineering) :
 Diminish for head impact injury in sports.
 King-Fu Lin (College of Engineering, National Taiwan University) :
 A simple method to estimate chain conformations of polyelectrolytes.

Session6 (Chairman : Wei-Fang Su)

Kazuhiro Nagata (Department of Cellular and Molecular Biology) :
 Collagen-specific molecular chaperone HSP47and development
 Nobuko Hosokawa (Department of Cellular and Molecular Biology)
 EDEM accerelates ER-associated protein degradation.
 Hiroshi Kubota (Department of Cellular and Molecular Biology)
 Cytosolic chaperonin CCT and cell growth.
 Kazuaki Matsumura, Naoki Nakajima, Chunyan Peng, Suong-Hyu Hyon, Sadami Tsutsumi
 (Department of Medical Simulation Engineering) :
 Regeneration of Periodontal ligament around titanium implant.
 Yuichiro Ueda, Hiroo Iwata (Department of Reporative Materials) :
 Bioartificial liver circulated by Whole Blood.

Session7 (Chairman : Yasuhiko Shimizu)

Jin-Wang Huang (Department of Chemistry, Chung-Yuan University) :
 Surface-modified calcium hydrogen phosphate as viable scaffold for tissue engineering.
 Yosinobu Murakami, Hiroo Iwata, Etsuko Kitano, Hajime Kitamura, Yoshito Ikada (Department of Reporative Materials) :
 Interaction of poly (2-acrylamide 2-methylpropane sulfonate)-grafted polystyrene beads with serum complement system.
 Inkap Ko, Hiroo Iwata (Department of Reporative Materials) :
 An approach to construct 3-dimensional tissue using cellulose hollow fibers.
 Masatoshi Inoue, Keiji Shigeno, Tatsuo Nakamura, Yasuhiko Shimizu (Department of Bioartificial Organs) :
 Regeneration of permanent teeth.
 Yoshio Hori, Dai Kimura, Tatsuo Nakamura, Yasuhiko Shimizu (Department of Bioartificial Organs) :
 Regeneration of digestive tract.

Session8 (Chairman : King-Fu Lin)

Akio Kishida (National Cardiovascular Center Research Institute) :

- A novel organic/inorganic molecular assembly for tissue engineering.
Yu Liu, Tatsuo Nakamura, Yasuhiko Shimizu (Department of Bioartificial Organs) :
Artificially-treated tracheal allotransplantation without anti-immunological agents.
Wei-Fang Su (College of Engineering, National Taiwan University) :
Development of 3D resorbable scaffolds for articular cartilage tissue engineering.
Junya Toguchida, Tomitaka Nakayama, Hiroshi Murakami, Takeharu Nakamata, Tomoki Aoyama, Takashi Nakamura, and Masanori Oka (Department of Tissue Regeneration) :
Establishment of bone and cartilage-derived cell lines from p53^{-/-} mice.

医工学フォーラム (2001 2.14 京大会館, 主催 医工学フォーラム 後 義人)

- | | |
|--------------------------|----------------------|
| 1. 徐放化細胞増殖因子を用いた骨組織の再生医学 | 田畑 泰彦 (生体材料学分野) |
| 2. 脳血管内治療に用いる用具の開発 | 岩田 博夫 (組織修復材料学分野) |
| 3. 人工肝の基礎研究 | 児玉 亮 (生体再建学分野) |
| 4. 人工歯根周囲における歯根膜の再生 | 堤 定美 (シミュレーション医工学分野) |
| 5. 冠動脈ステントの設計について | 池内 健 (生体機械工学分野) |
| 6. 荷重支持組織の再建と再生 | 富田 直秀 (医用システム工学分野) |
| 7. 生体内での自己組織、臓器の再生 | 清水 慶彦 (臓器再建応用分野) |
| 8. 糖尿病治療のための膵島再生医療 | 井上 一知 (器官形成応用分野) |
| 9. 人工軟骨の開発 | 岡 正典 (組織再生応用分野) |

特別講演

国家戦略としてのティッシュエンジニアリング

立石哲也 (東京大学大学院工学系研究科再生医工学研究室・教授)

A Workshop on Muscular Dystrophy, Perspectives to Studies on Myogenesis and Therapeutics of Muscular Diseases in 21st Century

(2001.3.22. キャンパスプラザ京都 Organizer : Dept. of Growth Regulation)

1. Current Topics on Muscle Development and Regeneration

Kazuki Kuroda (Kyoto Univ.) :

Notch signaling and cell fate determination

Sumiharu Noji (Tokushima Univ.)

Roles of FGF10 and Myostatin in muscle formation

Yukiko Hayashi (NCNP)

Pathomechanism of Fukuyama type congenital muscular dystrophy

Atsuko Sehara (Kyoto Univ.)

Roles of ADAM proteases in myogenesis

Michael Rudnicki (McMaster Univ., Ontario)

Transcription factors and myogenesis

2. Current Topics on Myogenic Stem Cells

Shosei Yoshida (Kyoto Univ.)

Stem cell pool maintenance and transcription factors : learning from skeletal muscle

Jun Yamashita (Kyoto Univ.)

Stem cells and blood vessel formation

Keiichi Filida (Keio Univ.)

Stem cells and heart formation

Margaret A. Goodell (Baylor College of Med., Houston)

Stem cells and muscle regeneration

3. Perspectives to Novel Diagnoses and Therapy of Muscular Diseases

Ryoichi Matsuda (Univ. Tokyo)

A Novel type of chemotherapy

Masafumi Matsuo (Kobe Univ.)

A Novel therapy based on the regulatory mechanism of splicing

Shin'ichi Takeda (NCNP)

New therapeutic approaches of muscular dystrophy

Toshifumi Tsukahara (NENP)

Development of human muscle cDNA microarray and analysis of gene expression profile

Terry Partridge (MRC, London)

Stem cells and transplantation

第11回 Kyoto T Cell Conference (2001.6.29-30, 京大会館, 主催: 再生免疫学)

Session I 胸腺構築 (座長 広川勝彦)

1. 胸腺上皮細胞が発現し, T 細胞分化に関わる新しい分子の探索
宇津山正典, サイドラ・ハインリッヒ, 広川勝彦 (東京医科歯科大・院医・分子免疫病理)
2. 胸腺原基形成期における組織構築と Foxn 1 (whn) 転写因子の発現
塚本紀之, 系井マナミ, 雨貝 孝 (明治鍼灸大・鍼灸・免疫微生物)
3. マウス胸腺上皮細胞株における H2-DM 陽性 compartment の生化学的性質
笠井道之¹, 水落利明¹, 池田 通² (¹感染研・細菌血液製剤部, ²東京医科歯科大・院医歯学・分子免疫病理)
4. 胸腺上皮細胞の Stat 3 は生後期における胸腺器官の構造維持と胸腺細胞の生存維持に必須である
佐野榮紀¹, 高浜洋介², 小阪 博¹, 宮崎純一³, W. van Ewijk⁴, 竹田潤二⁵ (阪大・院医・¹皮膚科学, ³栄養学, ⁵環境医学, ²徳島大・ゲノム機能研セ, ⁴Erasmus Univ)

Session II Progenitors (座長 中内啓光)

1. Adult thymus 中の T 前駆細胞が示す pre- β -rearrangement proliferation
陸 敏, 河本 宏, 伊川友活, 藤本真慈, 桂 義元 (京大・再生研・再生免疫)
2. 胎仔期マウスにおける T 前駆細胞の migration
伊川友活, 河本 宏, 陸 敏, 桂 義元 (京大・再生研・再生免疫)
3. 胎仔胸腺へ最初に移行する前駆細胞は T 系列にコミットされているか
河本 宏¹, 系井マナミ², 雨貝 孝², 伊川友活¹, 陸 敏¹, 桂 義元¹ (¹京大・再生研・再生免疫, ²明治鍼灸大・免疫微生物)

Session III 遺伝子再構成 (座長 赤松兼子)

1. マウス RAG 2 遺伝子の発現制御
岸 裕幸, 金 哲雄, 村口 篤 (富山医薬大・医・免疫)
2. Regulation of V-to-DJ rearrangement by RAG2
赤松兼子^{1,2,3}, R.J.Monroe^{3,4}, F.Gartner^{3,4}, L. Davidson^{3,4}, F.W. Alt^{3,4}, M.A.Oettinger^{2,3} (¹徳島大・ゲノム機能研セ, ²Massachusetts General Hosp., ³Harvard Med. Sch., ⁴Howard Hughes Med. Inst., The Children's Hosp., The Center for Blood Res.)
3. TCR β 鎖再構成に伴う転写および転写後調節機構
妹尾 誠¹, Lili Wang¹, 真貝洋一², 垣生園子¹ (¹東海大・医・免疫, ²京大・ウイルス研, 信号伝達)
4. Stat5 と転写共役因子による TCR γ 遺伝子座の組換え制御機構
Ye Sang-Kyu¹, 懸 保年², 李海天¹, 清水 章², 生田宏一¹ (¹京大・医・分子生物, ²京大・遺伝子実験施設)
5. ヒストンアセチル化による V γ 遺伝子領域の組換え制御機構
生田宏一¹, 懸 保年², 片貝智哉², Ye Sang-Kyu¹, 清水 章² (¹京大・医・分子生物, ²京大・遺伝子実験施設)

Session IV 胸腺細胞分化・成熟の分子メカニズム (座長 佐藤健人, 岩淵和也, 高浜洋介)

1. ヒト胸腺細胞における survivin の発現
小林昌玄, 雪上晴弘, 深井一郎, 藤井義敬 (名古屋市大・医・第2外科)
2. 神経ペプチド Y とアロペプチドの免疫系に対する効果
常世田好司, 辻川和丈, 山元 弘 (阪大・院医・細胞生理)
3. T 細胞分化に伴う pT α 遺伝子の発現制御の解析
竹内 新, 高瀬 完, 山崎 晶, 斉藤 隆 (千葉大・院医・遺伝子制御)
4. IL-7/IL-7R signaling regulates the proliferation of β -selected thymocytes
Katsuto Hozumi¹, Ludovica Bruno², Michael J. Owen² (¹Dep. Immunol., Tokai Univ. Sch. Med., ²Lymphocyte Mol. Biol. Laboratory, ICRF)
5. 胸腺内における T 細胞の分化を制御する新しい分子の探索
近藤佐千子, 岸 裕幸, 劉 慶理, 村口 篤 (富山医薬大・医・免疫)
6. 新生仔期の胸腺 T 細胞移出には CCL19/CCR7 が必須である
上野智雄¹, U. Hoepkin², M. Malin³, 松島綱治¹, M. Lipp², R. Boid³, 義江 修⁵, 高浜洋介¹ (¹徳島大・ゲノム機能研セ, ²MDC, ³Monash Univ, ⁴東大, ⁵近畿大)
7. focal adhesion kinase の類縁分子 Pyk2 のケモカイン反応性およびサイトカイン産生における役割
鶴飼 (夢沼) 磨貴¹, 中田由紀子², 鈴木 元³ (¹千葉大・医, ²放医研・中性子, ³放影研・臨床)
8. ケモカインによる胸腺 T 細胞遊走に対する figronectin および laminin の影響
柳川芳毅¹, 岩淵和也¹, 鈴木 元², 中田有紀子³, 小野江和則¹ (¹北大・遺制研・免疫応答, ²放影研・臨床研究部, ³放医研・第1チーム)
9. 胸腺リンパ腫発生メカニズムの多様性
柿沼志津子, 島田義也 (放医研)

Session V B 細胞・マクロファージ (座長 仲野 徹)

1. B 細胞における癌抑制遺伝子 PTEN の機能解析
鈴木 聡¹, 大石美奈子¹, 浅田徳子¹, 仲野 徹¹, 鐔田武志² (¹阪大・微研・遺伝子動態, ²東京医科歯科大・難治研・免疫疾患)
2. ITIM を有する新規の免疫グロブリン様受容体分子群 MAIR-1 の同定
四本克巳, 岩間厚志, 大越 靖, 渋谷和子, 中内啓光, 渋谷 彰 (筑波大・基礎医学系・免疫)

Session VI 活性化シグナル (座長 斉藤 隆)

1. 活性化 T 細胞補助シグナル分子 H4/ICOS の Th 細胞における特異的シグナル伝達機構と機能制御
有村 裕¹, 加藤秀人¹, Umberto Dianzani², 岡本俊宏³, 小柳 円¹, 亀倉聡一郎¹, Danatella Buonfiglio², 三好 徹¹, 内山竹彦¹, 八木淳二¹ (東京女医大・微生物免疫, ²Dept.Med.Sci., A.Avogadro Univ. of Eastern Piedmont, ³東京女医大・歯・口外)
2. IL-2 は CTLA-4 の細胞表面への輸送に必須である
榎木俊聡, 牧雅佳子, 小安重夫 (慶應大学・医学部・微生物免疫学)
3. CTX は細胞分裂なしに IL-2R シグナルで分化誘導される
横須賀忠, 荒瀬 尚, 高瀬 完, 山崎 晶, 瀧 伸介, 斉藤隆 (千葉大・院医・遺伝子制御)
4. 細菌性スーパー抗原によりアナジーを誘導されたヒト胸腺 CD4⁺T 細胞におけるシグナル伝達系の解析
藤巻わかえ¹, 岩島牧夫², 八木淳二¹, 張 華¹, 八木寿子¹, 瀬尾和宏³, 今井靖晴³, 今西健一¹, 内山竹彦¹ (東京女医大・微生物免疫, ²Med.Coll.Georgia, ³東女医大・循環器小児科)

Session VII Lipid Raft (座長 小杉 厚)

1. スフィンゴ糖脂質合成阻害剤の Lipid raft および TCR シグナル伝達反応に及ぼす影響
永福正和¹, 井ノ口仁一², 加藤彰子¹, 濱岡利之³, 小杉 厚¹ (阪大・院医・病態生体情報, ²北大・院薬・生体機能化学, ³阪大・院医・腫瘍発生)
2. TCR シグナル伝達における Lipid raft の凝集と LAT の動的変化
谷村奈津子¹, 皆木康子¹, 永福正和¹, 濱岡利之², 小杉 厚¹ (阪大・院医・¹病態生体情報, ²腫瘍発生)
3. コンディショナルジーンタッグゲティングによる T 細胞分化におけるスフィンゴ脂質の役割の解明
大須賀壮^{1,4}, 小杉 厚², 安田好文², 谷一靖江², 近藤 玄¹, 外野善弘¹, 平林義雄⁴, 竹田潤二^{1,3} (阪大・院医・¹社会環境医学, ²病態生体情報, ³先端センター, ⁴理研脳センター)
4. 胸腺細胞の分化における脂質膜ドメインの役割
駒庭学志¹, 河本 宏², 桂 義元², 宇高恵子³ (京大・¹生命科学・生体応答, ²再生研・再生免疫, ³理・生物物理)

Session VIII 自己寛容と調節性細胞 (座長 坂口志文, 鐔田武志)

1. SKG マウスの RA 様関節炎における B 細胞の関与
饗場祐一¹, 樋口哲也¹, 坂口教子², 坂口志文², 鐔田武志¹ (東京医科歯科大・難研・免疫, ²京大・再生研・生体機能調節)
2. リウマチ様関節炎を自然発症する SKG マウス胸腺における T 細胞選択異常
坂口教子, 坂口志文 (京大・再生研・生体機能調節)
3. 同系混合リンパ球反応で増殖する T 細胞亜群
荒浪利昌, 岩瀬和也, 小野江和則 (北大・遺伝子病制御研・免疫応答)
4. CD25⁺CD4⁺T cell によるアロ免疫反応の制御
先浜俊子, 坂口志文 (京大・再生研・生体機能調節)
5. CD25⁺CD4⁺T 細胞の操作による腫瘍免疫の誘導
山崎小百合^{1,2}, 清水 淳³, 西岡 清², 坂口志文¹ (京大・再生研・生体機能調節, ²東京医科歯科大・医・皮膚科, ³都老人研・免疫病理)

Session IX 抗原認識 (座長 田中義正)

1. 非ペプチド性抗原に対するヒト V γ 2J γ 1.2V γ 2 型 T 細胞の反応性解析
山下誠二, 田中義正, 湊 長博 (京大院・生命・生体制御)
2. J γ 1 2領域のリジン残基による非ペプチド性抗原の認識機構
宮川 史¹, 田中義正¹, 山下誠二¹, 三上文三², 湊 長博¹ (京大院・¹生命・生体制御, ²農, 品質科学)
3. Th1/Th2 分化におけるダニアレゲン三次構造の影響
田中義正¹, 是松聖悟¹, 鈴木将史¹, 三上文三², 湊 長博¹ (京大院・¹生命・生体制御, ²農, 品質科学)

Session X Th1/Th2 細胞の分化に伴う表面分子の変化と TCR シグナルの関係 (座長 伊藤 靖)

1. AML1 転写因子による IL-4 の発現制御
林啓太郎¹, 夏目和歌¹, 久保充人², 佐竹正延¹ (東北大・加齢研・免疫遺伝子, ²東京理大・生命研・免疫生物)
2. Th 細胞における IL-4 や IL-5 遺伝子発現制御における Bcl6 の機能解析
有馬雅史, 市井啓仁, 外山博近, 岡田誠治, 幡野雅彦, 徳久剛史 (千葉大院・医・分化制御)
3. Th2 細胞分化と IL-4, IL-13 遺伝子座の脱メチル化, ヒストンアセチル化
山下政克^{1,2}, 中山俊憲² (TORENT・JST, ²千葉大院・医・免疫細胞医学)
4. Th1 と Th2 細胞の TCR シグナルの差異と表面マーカーの関係
伊藤 靖, 石田英晃, 藤本徳毅, 小笠原一誠 (滋賀医大・病理学第2)
5. 新規 dual specificity phosphatase のクローニングとその Th1/Th2 分化における役割
松口徹也, Tipayarith Musikachareon, 吉開泰信 (名大・医・生体防御)
6. Memory T 細胞における Bcl6 の機能解析
市井啓仁^{1,2}, 幡野雅彦¹, 岡田誠治¹, 外山博近^{1,2}, 滝 伸介¹, 有馬雅史¹, 黒田嘉和², 徳久剛史¹ (千葉大院・医・分化制御, ²神戸大院・医・外科1, ³千葉大院・医・遺伝子)
7. ポリコム遺伝子産物による Th1/Th2 細胞分化の制御
中山俊憲, 木村元子 (千葉大院・医・免疫細胞医学)

International Symposium “Development and Epigenetics of Mammalian Germ Cells and Pluripotent Stem Cells”

(2001.11.19-21. Miyako Hotel, Kyoto, Organizer : Dept of Development and Differentiation)

Session1 (Chairperson : Yasuhisa MATSUI, Toshiaki NOCE)

Anne McLAREN (Wellcome/CRC Institute, University of Cambridge, UK) :

Germ cell pathways : EG cell variations.

Patrick TAM, Catherine WATSON, Tania TSANG and Poh-Lynn KHOO (Childrens Medical Research Institute, University of Sydney, Australia) :

Allocation and differentiation of the progenitors for germ cells and urogenital tissues.

Austin SMITH (Centre for Genome Research, University of Edinburgh, UK) :

Self-renewal and differentiation of pluripotent embryonic stem cells.

Hitoshi NIWA (RIKEN Center for Developmental Biology, Kobe, Japan) :

Molecular Mechanism for maintaining pluripotency of embryonic stem cells.

Session 2 (Chairperson : Norio NAKATSUJI)

Kuniya ABE, Kanae MITSUNAGA, Misako YUZURIHA, Keiko TAGAWA, Taeko ABE, Kazuyuki OHBO, Tohru KOMIYA, Ken-ichi YAMAMURA and Minoru S. H. KO (Institute of Molecular Embryology & Genetics, Kumamoto University, Japan) :

Studies on gene expression in mouse primordial germ cells using large scale cDNA analysis.

Guang-Quan ZHAO (Department of Pharmacology and Cecil H. & Ida Green Center for Reproductive Biology Sciences, University of Texas Southwestern Medical Center, Dallas, USA) :

BMP signaling in the generation of primordial germ cells in the mouse.

Yasuhisa MATSUI (Research Institute, Osaka Medical Center for Maternal and Child Health, Japan) :

Mechanisms regulating PGC formation from epiblast in mouse embryos.

Toshiaki NOCE (Mitsubishi-Kagaku Institute of Life Sciences, Tokyo, Japan) :

Mouse vasa gene in the mouse germ cell development and in vitro differentiation of ES cells into germ cells.

Session3 (Chairperson : Kuniya ABE)

Chris WYLIE, Kathy MOLYNEUX and James STALLOCK (Children's Hospital Research Foundation, Cincinnati, USA) :

Analysis of behaviour of living primordial germ cells in the early mouse embryo.

Robin LOVELL-BADGE, Ryohei SEKIDO, Silvana GUIOLI, Amy JOHNSON, Claire CANNING, Clare WISE, Isabel BAR, Christine HOYLE and Amanda SWAIN (MRC National Institute for Medical Research, London, UK) :

The Molecular Genetics of Sex Determination in Mammals : Building Pathways.

Norio NAKATSUJI, Shinichiro CHUMA and Kouichi HASEGAWA (Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University, Japan) :

Differentiation of mouse primordial germ cells into female or male germ cells.

Tomohiro KONO, Yayoi OBATA, Yusuke SOTOMARU, Yukiko KATSUZAWA, Hidehiko OGAWA and Izuho HATADA (Department of BioScience, Tokyo University of Agriculture, Japan) :

Establishment of genomic imprinting in the female germ cells.

Atsuo OGURA (National Institute of Infectious Diseases, Tokyo, Japan) :

Phenotypes and epigenetic status of mice cloned from somatic cells.

Session4 (Chairperson : Atsuo OGURA)

Yukio TSUNODA (College of Agriculture, Kinki University, Nara, Japan) :

Cloning and reprogramming of mammalian nuclei.

Mitunori SAITO, Sylvia ERHARDT, Patrick WESTERN and Azim SURANI (Wellcome/CRC Institute, University of Cambridge, UK) :

The origin and properties of the mouse germ cell lineage.

Nobuo TAKAGI and Shirin FARIVAR (Graduate School of Environmental Earth Science, Hokkaido University, Sapporo, Japan) :

X chromosome inactivation and reactivation in mouse cells.

Session5 (Chairperson : Tomohiro KONO)

Naomi TSUJIMOTO, Hideyuki BEPPU, Yasuhiro SAKAI, Takahito CHIJIWA, Kuniya ABE, Tomohiro KONO, Shoji TAJIMA, En LI and Hiroyuki SASAKI (National Institute of Genetics, Mishima, Japan) :

DNA methylation and genomic imprinting in mammalian germ cells.

Fumitoshi ISHINO, Jiyoung LEE, Kimiko INOUE, Takashi KOHDA, Tomoko KANEKO-ISHINO and Atsuo OGURA (Gene Research Center, Tokyo Institute of Technology, Yokohama, Japan) :

Analysis of cloned embryos derived from primordial germ cells-Erasing process of genomic imprinting memory.

Masako TADA, Norio NAKATSUJI and Takashi TADA (Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University, Japan) :

Nuclear reprogramming of somatic cells by in vitro hybridization with ES cells.

Session6 (Chairperson : Masaru OKABE)

Norman B. HECHT (Center for Research on Reproduction and Women's Health, University of Pennsylvania, Philadelphia, USA) :

Selective intracellular and intercellular mRNA transport in mammalian germ cells.

T. FUJII, K. YOMOGIDA, H. TANAKA, Y. NISHIMUNE and Hiroshi NOJIMA (Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University, Japan) :

Comprehensive cloning of mouse spermiogenesis specific genes by stepwise subtraction method.

Masami NOZAKI (Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University, Japan) :

Unique features of genes related to mammalian spermatogenesis and spermiogenesis.

Session7 (Chairperson : Yoshitake NISHIMUNE)

Junji TAKEDA and Kyoji HORIE (Collaborative Research Center for Advanced Science and Technology and Graduate School of Medicine, Osaka University, Japan) :

Germ line mutagenesis by mouse transposon system.

Masaru OKABE, Masahito IKAWA, Tomoko NAKANISHI, Kazuo YAMAGATA, Shuichi YAMADA, Eisuke MEKADA and Yoshitake NISHIMUNE (Genome Information Research Center, Osaka University, Japan) :

Mechanisms of fertilization in mammals : Studies of infertility derived from gene disruptions.

Gen KONDOH (Graduate School of Medicine, Osaka University, Japan) :

A GPI-anchored protein releasing activity in male germ cells : Its isolation and characterization.

5. 協議員・教職員名簿

京都大学再生医科学研究所協議員

竹 市 雅 俊（京都大学大学院生命科学研究科教授）
中 尾 一 和（京都大学大学院医学研究科教授）
西 川 伸 一（京都大学大学院医学研究科教授）
小久保 正（京都大学大学院工学研究科教授）
荒 木 光 彦（京都大学大学院工学研究科教授）
塩 田 浩 平（京都大学大学院医学研究科教授）

京都大学再生医科学研究所職員（平成14年1月1日現在）

所 長 山 岡 義 生

生体機能学研究部門

細胞機能調節学分野

教授：永田和宏 助教授：細川暢子 助手：久保田広志 講師（非常勤）：遠藤斗志也，矢原一郎，
天野富美夫 技官：島田道子 教務補佐員：安田邦彦 事務補佐員：上田玉美

生体微細構造学分野

教授：鈴木康弘 講師：平芳一法 講師（非常勤）：花田敬吾 技官：小岸久美子

生体機能調節学分野

教授：坂口志文 助手：高橋武司 講師（非常勤）：中鶴修一，坂口教子，石田靖雅 技能補佐員：
石田嘉子 研究支援推進員：山本恵津子

シミュレーション医工学分野

教授：堤 定美 助教授：玄 丞然 講師（非常勤）：南部敏之，茂木伸夫，菅原明喜 非常勤研究員：
吉田宏昭 教務補佐員：葭仲 潔 事務補佐員：上村幸代，山本博美

生体再建学分野（国内客員）

教授（併）：松崎文雄 助教授：小阪美津子

生体組織工学研究部門

生体分子設計学分野

教授：開 祐司 助教授：宿南知佐 講師（非常勤）：近藤 淳，手塚健一，渥美忠男
研究支援推進員：岩元志織 事務補佐員：久保友紀恵

生体材料学分野

教授：田畑泰彦 助手：山本雅哉 事務補佐員：高崎みゆき

組織修復材料学分野

教授：岩田博夫 助教授：加藤功一 講師（非常勤）：宇山良公，内田恵美子，尾形 栄，上野淳司，
星野一正 教務補佐員：戸田満秋 事務補佐員：鈴木義子

生体物性学分野（国内客員）

教授（併）：児玉 亮

再生統御学研究部門

発生分化研究分野

教授：中辻憲夫 助教授：齋藤哲一郎 助手：多田 高 リサーチアソシエイト：末盛博文，木村博信，
多田政子 技術補佐員：森部江美子，増井美哉子，田中ます子 技能補佐員：村田憲康，山本雅之
事務補佐員：酒井睦美，久世敦美

再生誘導研究分野

教授：笹井芳樹 助教授：細川昌則 講師：河崎洋志 講師（非常勤）：清木 誠 技官：松下隆壽
非常勤研究員：村上能庸 研究支援推進員：松田園子，渡辺知子 技術補佐員：櫻木 誠，尾内隆行，
小島 康 事務補佐員：田中あゆ美，奥村朋子

再生増殖制御学分野

教授：瀬原淳子 助手：栗崎知浩 リサーチアソシエイト：若月修二 非常勤研究員：黒原一人
研究支援推進員：渡邊仁美，金子史央 事務補佐員：倉澤祥子

再生免疫学分野

教授：桂 義元 助教授：喜納辰夫 助手：藤本真慈 講師（非常勤）：佐渡敏彦，高沖宗夫
技官：高沖悠子 技能補佐員：中川澄江

生体システム医工学研究部門

医用システム工学分野

助教授：富田直秀 講師（非常勤）：脇谷滋之

生体機械工学分野

教授：池内 健 助手：都賀谷紀宏 事務補佐員：林 宏美

生体システム制御学分野

選考中

再生医工学分野（外国人客員）

教授：Oleg Nikolayevich TRETINNIKOV

再生医学応用研究部門

生体修復応用分野

選考中

組織再生応用分野

助教授：戸口田淳也 講師（非常勤）：速水 尚 事務補佐員：安田尚代

器官形成応用分野

教授：井上一知 助教授：角 昭一郎 講師（非常勤）：塚田敬義，野澤真澄，千葉敏行，佐竹克介，砂村眞琴，日裏彰人 事務補佐員：山口裕子

臓器再建応用分野

教授：清水慶彦 助教授：中村達雄 講師（非常勤）：早川克己 非常勤研究員：上田寛樹 技術補佐員：西川裕美 研究支援推進員：中島久美子，並木知子 事務補佐員：矢延聡枝

再生医学応用流動分野

助手：廣瀬哲朗

附属再生実験動物施設

施設長事務取扱（兼）：山岡義生 助教授：前田道之 講師（非常勤）：佐藤 浩 技官：出口央士
研究支援推進員：岸本好子，高橋一郎，石丸英典，山尾勝美 技能補佐員：人見博子，古卿智英，細田勝

電子顕微鏡室

技官：増田 稔

研究室

技官：本間トキエ，今井保代

事務部

事務 長：岡本貞夫

庶務掛 長：八木定行 事務官：木戸場大輔 事務補佐員：能田直子

研究協力掛長：三上隆典 主任：吉田善弘，岩田容子 事務補佐員：中瀬安子

会計掛 長：藤田 勝 事務官：原田晶夫，八木 司 事務補佐員：戸嶋素子

Annual Report of the Institute for Frontier Medical Sciences
Kyoto University 2001

京都大学再生医科学研究所年報 2001

2002 年 3 月 15 日 印刷 2002 年 3 月 20 日発行

発 行 京都大学再生医科学研究所

京都市左京区聖護院川原町53 〒606-8507

印 刷 (株)北斗プリント社
